

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS**

**KARINE MATHILDE CAMPESTRINI DALLAGNOL**

**OS EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO NA NEUROINFLAMAÇÃO  
E NEUROPLASTICIDADE DO HIPOCAMPO DE  
CAMUNDONGOS VELHOS**

**Dissertação de Mestrado**

**Florianópolis**

**2016**



**KARINE MATHILDE CAMPESTRINI DALLAGNOL**

**OS EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO NA NEUROINFLAMAÇÃO  
E NEUROPLASTICIDADE DO HIPOCAMPO DE  
CAMUNDONGOS VELHOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para obtenção do título de Mestre em Neurociências.

**Orientador: Prof. Dr. Aderbal Silva Aguiar Jr**

**Florianópolis  
2016**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Dallagnol, Karine Mathilde Campestrini

OS EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO NA NEUROINFLAMAÇÃO E  
NEUROPLASTICIDADE DO HIPOCAMPO DE CAMUNDONGOS VELHOS /  
Karine Mathilde Campestrini Dallagnol ; orientador,  
Aderbal Silva Aguiar Junior - Florianópolis, SC, 2016.  
136 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós  
Graduação em Neurociências.

Inclui referências

1. Neurociências. 2. Envelhecimento. 3. Exercício físico  
. 4. REST. 5. BDNF. I. Junior, Aderbal Silva Aguiar . II.  
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós  
Graduação em Neurociências. III. Título.

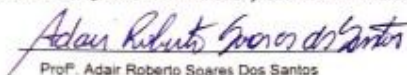
OS EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO NA NEUROINFLAMAÇÃO E  
NEUROPLASTICIDADE DO HIPOCAMPO DE CAMUNDONGOS VELHOS

Por

Karine Mathilde Campestri Dallagnol

Esta Dissertação foi aprovada em sua forma final pelos membros titulares da Banca  
Examinadora do Programa de Pós-Graduação em Neurociências - UFSC, composta  
pelos doutores:


Coordenador do Programa de Pós-Graduação Em Neurociências:

  
Prof. Adair Roberto Soares Dos Santos

Orientador:

  
Prof. Dr. Aderbal Silva Aguiar Jr.

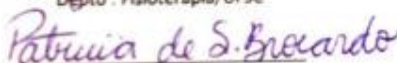
Banca Examinadora:



Prof. Gisele Lovatel  
Depto. Fisioterapia/UFSC



Dr. Mauricio Cunha  
Depto. Fisiologia/UFSC



Prof. Patricia Brocardo  
Depto. Ciências Morfológicas/UFSC

Suplente:



Dra. Karina Gussoni  
Depto. Bioquímica/UFSC

Florianópolis, 28 de março de 2016.



Dedico esta dissertação à minha família, em especial ao meu amado Edgar, pela compreensão e motivação constante.





## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar, quero agradecer à minha família por todo apoio e por sempre acreditarem na minha capacidade. Aos meus pais, Elói e Osmarina, pela oportunidade que sempre me ofereceram de seguir com os meus objetivos, pelo apoio moral e financeiro, e por serem meu alicerce e meu porto seguro. E em especial ao meu marido, Edgar de Oliveira Leandro, pelo apoio incondicional, me dando forças e me incentivando nos momentos mais difíceis! Também em primeiro lugar, mas de “forma acadêmica” quero agradecer ao meu orientador Prof. Dr. Aderbal Silva Aguiar Jr, por todo o conhecimento de vida e de profissão transmitido. Por ter me dado essa oportunidade, acreditando em meu potencial e me ensinando o caminho da ciência. Com certeza, será sempre um dos meus exemplos nesta carreira e na área de pesquisa. Agradeço também à Prof<sup>a</sup>. Dra. Alexandra Susana Latini por ter aberto as portas de seu laboratório para que eu pudesse realizar meu trabalho. Agradeço à Prof. Dra. Andreza Fabro de Bem, ao Prof. Dr. Rui Daniel Prediger, à Prof<sup>a</sup>. Dra. Carla Inês Tasca e ao Prof. Dr. Geison de Souza Izídio que abriram as portas de seus laboratórios para que eu pudesse realizar o minha pesquisa. Aos meus colegas de laboratório: Rodrigo, Ana Elisa, Ananda, Priscila, Lucila, Débora, Aline, Anelise, Karina, Roberta, Larissa, Bruna e Jaqueline. Aos professores da pós-graduação em Neurociências, e ao secretário Nivaldo. Aos técnicos do LAMEB da UFSC, pelo auxílio metodológico. Aos meus amigos, que de perto ou de longe, antigos e novos, da pós-graduação UFSC e fora dela, acompanharam este trabalho. À CAPES pela bolsa concedida. Agradeço, ainda, às editoras Lippincott, Williams & Wilkins e Barak, Feldman & Okun que cederam suas imagens para a utilização em meu trabalho.

A cada um, muito obrigada. Foi maravilhoso ter encontrado com vocês!



“Toda grande caminhada começa  
com um simples passo”  
(BUDA)



## RESUMO

O número de pacientes acometidos por doenças neurodegenerativas crônicas vem crescendo nas últimas décadas devido ao aumento da expectativa de vida mundial. A neuroinflamação é um processo natural do envelhecimento e está intimamente relacionada à etiologia de diversas doenças neurológicas (neurodegenerativas e psiquiátricas), resposta comportamental tipo-doença (do inglês *sickness behavior* - Reichenberg et al., 2001), prejuízos cognitivos e sensibilização do sistema imune frente a estímulos internos e/ou externos. Com o estado neuroinflamatório ocorre uma elevada expressão de quimiocinas pró-inflamatórias (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ) e uma redução de fatores neurotróficos, como o Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF), Fator de Crescimento Semelhante à Insulina – Tipo 1 (IGF-1) além do fator de transcrição REST (do inglês *RE-1-silencing transcription factor*). A redução de BDNF e REST é um dos pilares do envelhecimento do SNC, perdendo a neuroproteção e acarretando no desenvolvimento de doenças como depressão e doença de Alzheimer. As pesquisas científicas têm mostrado que o exercício físico como intervenção terapêutica modula o sistema imunológico, atenuando a neuroinflamação e aumentando a expressão de BDNF e REST hipocampais, minimizando os prejuízos cognitivos relacionados ao envelhecimento, consequentemente, otimizando o comportamento doente. O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos do exercício físico sobre a atividade motora, bem como o comportamento tipo-depressivo, neuroinflamação e neuroplasticidade de camundongos velhos. Para isso utilizamos o livre acesso às rodas de corrida voluntária por um período de oito semanas, após os animais foram submetidos às tarefas comportamentais de campo aberto e suspensão pela cauda que são conhecidas na literatura por determinar os comportamentos ansiogênico e depressivo, respectivamente. Os animais envelhecidos apresentaram menor mobilidade comparado aos adultos, porém o exercício aumentou a permanência dos animais no centro do campo aberto e o número de levantamentos, indicando um comportamento ansiolítico. O exercício físico também reduziu o tempo total imóvel nos animais velhos no teste de suspensão pela cauda. Verificamos, ainda, que os animais idosos sedentários apresentaram maior expressão de IL-1 $\beta$  e IL-

10 que seu par exercitado, indicando menor ativação do sistema imune induzido pelo exercício. O fator REST foi mais expresso nos animais envelhecidos que nos adultos e o exercício aumentou a expressão desse fator no grupo idoso. Já o BDNF estava pouco expresso nos animais velhos comparado aos adultos e o exercício aumentou essa expressão. Podemos concluir que o exercício físico modula a homeostasia cerebral e induz neuroplasticidades, conferindo neuroproteção e redução do comportamento tipo-depressivo nos animais envelhecidos.

**Palavras-chave:** Fator de silenciamento transcricional – RE1, Envelhecimento, Exercício físico, Neuroinflamação, BDNF.

## ABSTRACT

The number of patients affected by chronic neurodegenerative diseases has increased in recent decades due to increased life expectancy. The neuroinflammation is a natural process of aging and is closely related to the etiology of several neurological diseases (neurodegenerative and psychiatric), sickness behavior, cognitive impairment and immune system awareness by internal and/or external stimulus. During the neuroinflammatory state occurs an increase on proinflammatory chemokines (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ) and a reduction on neurotrophic factors expression such as the brain-derived neurotrophic factor (BDNF), the insulin-like growth factor type 1 (IGF-1) and the RE-1-silencing transcription factor (REST). Decreased BDNF and REST expression is one of the pillars of the central nervous system (CNS) aging, reducing the neuroprotection and resulting in the development of diseases such as depression and Alzheimer's disease. Scientific research has shown that exercise can be a therapeutic intervention by modulating the immune system, reducing the neuroinflammation and increasing the hippocampal BDNF and REST expression, minimizing the cognitive aging-related damage and, consequently, improving the sickness behavior type. This work aimed to evaluate the physical exercise effects on aged mice motor activity, as well as the depressive-like behavior, neuroinflammation and neuroplasticity. Thus, the animals had free access to voluntary wheel running during eight weeks. Then, they were subjected to the open field and the tail suspension behavioral tasks which are well-known tools to evaluate the anxiogenic and depressive behaviors, respectively. The aged mice group showed reduced mobility comparing to adults. The exercise increased the animals permanence in the open field center and the rearing number, indicating an anxiolytic behavior. Exercise also reduced the immobility total time in old animals during tail suspension test. We noted that the elderly sedentary animals showed increased IL-1 $\beta$  and IL-10 expression compared to the exercised pair, indicating decreased immune system activation induced by exercise. The hippocampal REST was highly expressed in the aged mice comparing to the adults and its expression was increased by exercise in the elderly group. On the other hand, the aged mice exhibited lower hippocampal BDNF expression compared to adults which was increased by

exercise. We conclude that exercise modulates the brain homeostasis, induces neuroplasticity and neuroprotection and attenuates depressive-like behavior in aged mice.

**Keywords:** RE1-silencing transcription factor, Aging, Exercise, Neuroinflammation, BDNF.



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AD-EXE: Adulto exercitado

AD-SED: Adulto sedentário

AMPK: do inglês *AMP-activated protein kinase*, versão em português: Proteína cinase adenosina monofosfato.

BDNF: do inglês *Brain-derived neurotrophic factor*, versão em português: fator neurotrófico derivado do cérebro

BHE: barreira hemato-encefálica

CA1: do latim *Cornu Ammonis 1*, versão em português: Corno de Amon 1

CA3: do latim *Cornu Ammonis 3*, versão em português: Corno de Amon 3

CAT: catalase

CDK/ciclina: do inglês *Cyclin-dependent kinase/cyclin*, versão em português: Cinase dependente de ciclinas/ciclina

CD14: cluster de diferenciação 14

cDNA: DNA complementar

CTE: cadeia transportadora de elétrons

DA: Doença de Alzheimer

DNA: ácido desoxirribonucleico.

DP: Doença de Parkinson

DSM IV: do inglês *Diagnostic and statistical manual of mental disorders*, versão em português: Manual de Diagnóstico e Estatística de Transtornos Mentais 4º Ed

ERO: espécies reativas de oxigênio.

GD: Giro denteado

GPx: glutathione peroxidase

GSH: glutathione reductase

IDO: do inglês *Indoleamine 2,3-dioxygenase*, versão em português: Indoleamina 2,3-dioxygenase

ID-EXE: Idoso exercitado

ID-SED: Idoso sedentário

IGF-1: do inglês *Insulin like growth factor 1*, versão em português: Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1.

IL: interleucina

LPS: do inglês *Lipopolysaccharide*, versão em português: Lipopolissacarídeo bacteriano

MHC: do inglês *Major Histocompatibility Complex*, versão em português: complexo principal de histocompatibilidade

mRNA: ácido ribonucleico mensageiro

NAD<sup>+</sup>: do inglês *Nicotinamide adenine dinucleotide*, versão em português: Dinucleótido de nicotinamida e adenina

NADH: do inglês *Reduced nicotinamide adenine dinucleotide*, versão em português: Dinucleótido de nicotinamida e adenina desidrogenase

NRSF: do inglês *Neuron-Restrictive Silencer Factor*, versão em português: Fator Silenciador Restritivo Neural

PPAR- $\gamma$ : do inglês *Peroxisome proliferator-activated receptor gamma*, versão em português: Receptor gama do proliferador peroxissomo.

RC: Rodas de corrida

REST: do inglês *RE1-silencing transcription factor*, versão em português: Fator de silenciamento transcricional – RE1

SIRT: do inglês *Sirtuin*, versão em português: Sirtuína

SNC: Sistema nervoso central.

SOD: superóxido dismutase

TNF- $\alpha$ : do inglês *Tumor necrosis factor alpha*, versão em português: Fator de necrose tumoral alfa

TLR: do inglês *Toll-like receptor*, versão em português: receptores tool-like

VIGITEL: Vigilância De Fatores De Risco E Proteção Para Doenças Crônicas Por Inquérito Telefônico

WADA: do inglês *World Anti-Doping Agency*, versão em português: Agência mundial de anti-doping

WHO: do inglês *World Health Organization*, versão em português: Organização mundial de saúde



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Córtex hipocampal.....	28
<b>Figura 2.</b> Neurogênese hipocampal.....	29
<b>Figura 3.</b> Representação esquemática do desenho experimental do projeto.....	36
<b>Figura 4.</b> Modelo experimental de atividade física em roda de correr.....	37
<b>Figura 5.</b> Distância percorrida na roda de corrida voluntária.....	45
<b>Figura 6.</b> Atividade enzimática do complexo IV mitocondrial no músculo quadríceps.....	46
<b>Figura 7.</b> Controle semanal da massa corporal (a) e do consumo de ração (b) dos animais.....	47
<b>Figura 8.</b> Efeito do exercício físico no campo aberto.....	49
<b>Figura 9.</b> Efeito do exercício físico sobre o comportamento tipo-depressivo.....	50
<b>Figura 10.</b> Efeitos do exercício físico sobre a expressão gênica de BDNF e REST.....	52
<b>Figura 11.</b> Efeitos do exercício físico sobre a expressão de mRNA das interleucinas IL-1 $\beta$ e IL-10.....	53

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Sequência de <i>Primers</i> utilizada .....	41
--	----



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
1.1. O ENVELHECIMENTO POPULACIONAL E A ATIVIDADE FÍSICA.....	2
1.2. AS BASES BIOLÓGICAS DO ENVELHECIMENTO E O EXERCÍCIO FÍSICO.....	5
1.2.1 Teoria Celular Do Envelhecimento.....	6
1.2.2. Teoria Mitocondrial Do Envelhecimento.....	11
1.2.3. Via das Sirtuínas.....	13
1.2.4. Via do Fator de Crescimento Semelhante à Insulina Tipo-1 (IGF-1).....	15
1.3. AS MUDANÇAS MORFOLÓGICAS-FUNCIONAIS E NEUROLÓGICAS DO ENVELHECIMENTO.....	18
1.3.1. O Papel da Neuroinflamação no Envelhecimento do SNC.....	21
1.4. FACES OPOSTAS: NEUROINFLAMAÇÃO E NEUROGÊNESE & NEUROTROFINAS.....	27
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>33</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	33
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	33
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>35</b>
3.1 ANIMAIS.....	35
3.1.1 Controle do consumo de ração e massa corporal.....	36
3.1.2 Exercício na roda de corrida voluntária.....	37
3.2. COMPORTAMENTO.....	37
3.2.1. Teste de campo aberto.....	38
3.2.2. Teste de suspensão pela cauda.....	38
3.3. PARÂMETROS BIOQUÍMICOS.....	39
3.3.1. Extração de RNA total.....	39
3.3.2. Síntese de DNA complementar (cDNA).....	40

3.3.3. Padronização dos Primers.....	40
3.3.4. Quantificação da expressão gênica por Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativo em Tempo Real (RT-PCR).....	41
3.3.5. Mensuração da Atividade Enzimática da Cadeia Respiratória – Determinação do Complexo IV Mitocondrial (Citocromo C oxidase).....	43
3.3.6. Determinação de Proteína.....	43
3.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	44
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>45</b>
4.1. RODA DE CORRIDA.....	45
4.2. O EXERCÍCIO FÍSICO MELHOROU A ATIVIDADE MITOCONDRIAL MUSCULAR DOS ANIMAIS.....	46
4.3. EFEITO DO EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE A MASSA CORPORAL.....	47
4.4. EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE O COMPORTAMENTO DOENTIO.....	48
4.5. EFEITOS DO EXERCÍCIO NA EXPRESSÃO DE GENES ASSOCIADOS À NEUROPLASTICIDADE E NEUROINFLAMAÇÃO.....	51
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>55</b>
5.1. OS EFEITOS MOTORES, ANSIOLÍTICOS E ANTIDEPRESSIVOS DO EXERCÍCIO EM CAMUNDONGOS IDOSOS:.....	56
5.2. OS EFEITOS ANTI-INFLAMATÓRIOS DO EXERCÍCIO NO HIPOCAMPO DE ANIMAIS VELHOS:.....	58
5.3. A NEUROPLASTICIDADE INDUZIDA PELO EXERCÍCIO NO HIPOCAMPO DE ANIMAIS VELHOS.....	59
<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>65</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>67</b>



## 1. INTRODUÇÃO

O envelhecimento populacional é um fenômeno universal que vem crescendo nas últimas décadas e está modificando as sociedades, desde o aumento da qualidade de vida até o dos custos sócio-econômicos (ex.: aposentadorias) e gestão da saúde, como aumento na incidência de doenças neurodegenerativas. Este cenário ainda é pior devido à falta de tratamento para as doenças neurodegenerativas (Lipton et al., 2007; Imtiaz et al., 2014). Nas últimas décadas, a ciência tem buscado meios terapêuticos para tratar as comorbidades neurológicas do envelhecimento. O exercício físico e uma dieta saudável são modificações do estilo de vida promissoras para este objetivo. Enquanto isto, o sedentarismo vem sendo descrito como um fator de risco para várias doenças (Charchat-Fichman et al., 2005; Gal, Santos & Barros, 2005). Neste sentido, a compreensão dos efeitos do exercício físico nos mecanismos biológicos do envelhecimento é uma forte linha de pesquisa da área acadêmica. Assim, alguns fármacos foram desenvolvidos para mimetizar os efeitos do exercício, conhecidos como *exercise mimetics*, por exemplo, os agonistas do AMPK e do PPAR- $\gamma$  (Narkar et al., 2008; Richter, Kiens & Wojtaszewski, 2008). Estes fármacos têm demonstrado efeitos promissores em modelos experimentais de doenças neurológicas. Nos seres humanos, eles são usados como recursos ergogênicos, e foram banidos pela agência mundial *antidoping* (WADA, 2016).

O hipocampo é a área cerebral chave para as funções cognitivas (particularmente os processos de memória e aprendizado) e humor (Squire, 1992; Neves, Cooke, Bliss, 2008; Cotman et al., 2007) e também sofre declínio morfo-funcional no envelhecimento (Koh, Spiegel, Gallagher, 2014). Ocorre uma redução na expressão de neurotrofinas, atrofia hipocampal e alterações comportamentais semelhantes à depressão maior (Kelley & O'Connor, 2013; Barrientos et al. 2006; Tapia-Arancibia et al., 2008; Lipsky & Marini, 2007; Lykissas et al., 2007) que podem ser revertidas ou minimizadas através do exercício físico (Blumenthal et al., 1999; Dimeo et al., 2001; Otsuka et al., 2016).

Esta dissertação traz novas informações sobre este conjunto de problemas.

## 1.1. O ENVELHECIMENTO POPULACIONAL E A ATIVIDADE FÍSICA

O envelhecimento é um processo que ocorre durante o curso da vida, iniciando no nascimento e terminando em sua morte, causando no organismo alterações biológicas, psicológicas e sociais (Santos, 2003), envolvendo ainda aspectos cognitivos e emocionais (Rowe & Kahn, 1998; Baltes & Smith, 1995). O envelhecimento é o principal fator de risco das doenças neurodegenerativas. Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), existiam cerca de 204 milhões de pessoas com mais de 60 anos de idade em 1950 no mundo, sendo que

em 1998 este contingente alcançou 579 milhões, um crescimento de quase oito milhões de idosos por ano. No Brasil, dados do censo 2008 (IBGE) mostram 8,6% da população brasileira acima dos 60 anos de idade, representando aproximadamente 15 milhões de pessoas e, Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2015), esta faixa etária avançada corresponde a 12,5% da população brasileira. A população mundial conta hoje com 900 milhões de idosos, o que corresponde a 12,3% da população total e acompanhando a projeção para 2050 estima-se que a população idosa corresponda 21,5% da população total (OMS, 2015).

De acordo com Buford e colaboradores (2014), a independência física é o principal aspecto para determinar uma qualidade de vida saudável em idosos. O exercício físico aeróbico ou resistido na população idosa é uma intervenção-chave para melhorar as funções físicas (muscúsculo-esquelética, equilíbrio, agilidade, locomoção e função cardíaca), metabólicas (melhora da ação da insulina e maior eficiência do metabolismo de carboidratos), benefícios cognitivos, ansiolíticos e antidepressivos (Lee, 2000; King, Rejeski, Buchner, 1998; Chen et al., 1992; Evans & Cyr-Campbell, 1997; Frontera et al. 1988; Barnes et al., 2003). O exercício é capaz de retardar as mudanças fisiológicas associadas ao envelhecimento, promovendo a saúde cognitiva e mantendo a qualidade de vida (Chou, Hwang e Wu, 2012; Sato et al., 2014).

A frequência da atividade física, entretanto, diminui com o envelhecimento segundo Harridge e Young (1998), mas não

ficando clara a relação causa-consequência da redução da função neuromuscular no envelhecimento. De acordo com a OMS (2002, 2015) e dados do Centro de Controle de Doenças dos EUA (CDC, 2004), a inatividade física é responsável por cerca de dois milhões de mortes prematuras no mundo anualmente, estando relacionada aos casos de câncer de cólon e de mama e diabetes além de doenças isquêmicas cardíacas; também ocasiona um elevado custo econômico para o indivíduo, família e para o governo representando um problema de saúde pública (Charchat-Fichman et al., 2005). O perfil da população inativa fisicamente é mais prevalente em mulheres, idosos e indivíduos com baixo nível socioeconômico e de escolaridade, sendo influenciado ainda por aspectos culturais (Weinberg e Gould, 2001; Gomes, Siqueira e Sichieri, 2001; Faria Junior, Mendes e Barbosa, 2007; Carvalho et al., 1996; Hallal et al., 2003).

São poucas as evidências sobre a prevalência da atividade física na população idosa brasileira (Benedetti, 2004; Conte 2004; Hallal et al., 2003) bem como a associação entre a inatividade física e variáveis sócio-demográficas (idade, estado civil, etnia, ocupação, nível sócio-econômico) e condições de saúde (presença ou não de doenças neurológicas, metabólicas ou físicas). Em 2002 numa pesquisa realizada com a população idosa da cidade de Florianópolis - SC, constatou-se que 59,3% dos indivíduos entrevistados não são sedentários, sendo as atividades de lazer e as atividades domésticas as que mais

colaboraram para os níveis ativos dos homens e mulheres, respectivamente (Benedetti et al., 2008).

Segundo dados da Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL Brasil, 2008), a classificação de completa inatividade física<sup>1</sup> foi máxima na faixa etária igual ou superior aos 65 anos de idade, em ambos os sexos: 51,7% para homens e 53,2% para mulheres.

Analisando a interação entre a prática de atividade física e os fatores de riscos (genéticos, nutricionais e ambientais) que contribuem para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, neurológicas, físicas e metabólicas, considerou-se a inatividade física um dos fatores diretamente relacionados à prevalência e incidência de doenças crônicas não transmissíveis (Monteiro et al 2003; Shibata 2009; Brasil. 2008; Siqueira et al., 2008).

## 1.2. AS BASES BIOLÓGICAS DO ENVELHECIMENTO E O EXERCÍCIO FÍSICO

Nesta seção, iremos descrever as bases biológicas do envelhecimento mais comuns na literatura, sendo elas:

- a teoria celular,

---

<sup>1</sup> Que não realizam qualquer atividade física relevante, seja no trabalho, no deslocamento para o trabalho, em tarefas domésticas ou no lazer.

- a teoria mitocondrial, e,
- as alterações senescentes da microglia que impactam diretamente na homeostase inflamatória cerebral.

Assim, vamos descrever a neuroinflamação como uma base biológica do envelhecimento e das mudanças de humor. Demonstraremos, ainda, a função de neuroproteção durante o envelhecimento conferido pelo fator REST, o papel do BDNF para a sobrevivência neuronal e a capacidade neuroplástica e anti-inflamatória do exercício físico no SNC.

### **1.2.1 Teoria Celular Do Envelhecimento**

O ciclo celular se refere a uma sequência de eventos que levam a uma correta duplicação da célula e a continuação da vida, deste modo, sujeita ao envelhecimento do organismo.

O controle da progressão do ciclo celular é realizado através da atividade do complexo cinase dependente de ciclinas/ciclina (CDK/ciclina) e da ativação da transcrição do gene supressor de tumor p53, responsáveis pela detecção e sinalização de danos, conhecido como pontos de verificação (*checkpoints*), sendo a primeira resposta celular contra lesões no DNA. Quando essas proteínas sinalizam algum dano ao DNA, desencadeia uma cascata de eventos em resposta a esse dano. Na impossibilidade do reparo, outras respostas podem ser ativadas a fim de manter a integridade celular do tecido, mesmo

que parcialmente, ativando cascatas de morte celular programada (apoptose) ou mantendo o ciclo celular pausado permanentemente (senescente). A senescência celular pode ser desencadeada por diversos fatores, como encurtamento dos telômeros, estresse oncogênico e danos ao DNA (Ferreira, 2012; Csikász-Nagy, 2009).

Os telômeros são sequências repetitivas de DNA que limitam e nivelam as extremidades dos cromossomos e sofrem encurtamento de seu comprimento a cada divisão celular (Nalapareddy et al, 2008). O encurtamento dos telômeros afeta diretamente o ciclo celular, reduzindo-o e até mesmo anulando a capacidade replicativa da célula, contribuindo para o declínio das funções celulares e prejudicando a fisiologia de órgãos e tecidos durante o envelhecimento (Nalapareddy et al, 2008; Ferreira, 2012).

As alterações senescentes também são encontradas nas células neurais, neurônios e glia, como por exemplo, redução da síntese de neurotransmissores, da densidade de espinhas dendríticas e consequentes prejuízos cognitivos (Panossian et al, 2011; Tachibana et al., 2015). O sistema nervoso central (SNC) dentro de um perfil senescente sofre uma perturbação em sua homeostasia assumindo um estado de neuroinflamação crônica. No hipocampo, resulta no declínio da neurogênese e em disfunções cognitivas (Perry, Matyszak, Fearn, 1993; Sheffield & Berman 1998, Streit & Sparks 1997; Smith, 1996).

### 1.2.1.1 O Fator De Transcrição REST (*Re-1-Silencing Transcription Factor*)

O Fator de transcrição silenciador do elemento 1 (REST – também conhecido como Fator Silenciador Restritivo Neural, NRSF) é uma proteína dedo de zinco que se liga a genes neuronais que expressam RE1, reprimindo a transcrição desses genes tanto em células neurais quanto em células não-neurais (Palm et al., 1998; Chong et al., 1995). O REST é o principal fator transcricional repressor que modifica a expressão gênica no SNC ainda em desenvolvimento (DeWald, Rodriguez, Levine, 2011; Schoenherr, Paquette, Anderson, 1996).

Chong e colaboradores propuseram em 1995 que o papel do REST seria de silenciador da expressão de genes em tecidos não neurais. Assim, a atividade do REST varia de acordo com o tecido onde está expresso, com funções diferentes nos dois tipos de células tronco (embrionárias e neurais), nas células não neurais e nas células neurais adultas (Wang *et al*, 2012).

O REST é um repressor de genes neuronais altamente expressos nas células tronco embrionárias, estando envolvido na auto-renovação e pluripotência, sendo regulado negativamente quando se inicia a diferenciação celular (Singh *et al*, 2008; Buckley *et al*, 2009; Jorgensen *et al*, 2009; Lu *et al.*, 2014). O REST facilita o destino das células tronco embrionárias e neurais durante a diferenciação (Sun *et al*, 2005). A expressão desse fator de transcrição é obrigatória para que ocorra o desenvolvimento embrionário normal, sendo que qualquer



alteração na sua expressão resultaria em letalidade prematura para o embrião (Chen, Paquette, Anderson, 1998; Ballas & Mandel, 2005).

O REST não havia sido detectado em células neurais do SNC de adultos (Schoenherr *et al.* 1996) ou pouco expresso (Palm *et al.*, 1998). Lu e colaboradores (2014) demonstraram que o fator de transcrição mais expresso no cérebro envelhecido é o REST, neste caso, um fator neuroprotetor durante o envelhecimento. Lu *et al.* (2014) verificaram o aumento da expressão e conteúdo de REST no córtex pré-frontal de idosos saudáveis (73 – 106 anos), mas não em jovens adultos (20 – 35 anos). Ainda, o REST estava mais localizado no núcleo dos neurônios corticais e hipocampus do que na microglia e astrócitos (Lu *et al.*, 2014).

O papel neuroprotetor do REST foi sugerido após sua expressão ser aumentada em resposta a insultos isquêmicos (Calderone *et al.*, 2003), e prejuízos causados pela sua ausência no hipocampo e córtex pré-frontal (Lu *et al.*, 2014). Esta neuroproteção é garantida pela distribuição neuroanatômica no córtex pré-frontal e hipocampo, repressão da expressão de genes pró-apoptóticos e aumento da expressão de genes anti-apoptóticos, e redução da vulnerabilidade ao estresse oxidativo (Lu *et al.*, 2014).

A expressão do REST parece ser modulada pelo exercício físico. Mojtabedi e colaboradores (2013) demonstraram que duas semanas de corrida na esteira reduziu a expressão de

REST, sugerindo um estágio transitório de diferenciação neuronal das células progenitoras neuronais.

A exposição ao estresse oxidativo e sinalização pela via Wnt- $\beta$ -catenina induzem a expressão de REST e sua ligação ao elemento repressor 1 (RE1), além de aumentar a translocação nuclear. O fator de transcrição REST aumenta a expressão de fatores de transcrição que medeiam a resistência ao estresse oxidativo, como as enzimas antioxidantes catalase e superóxido dismutase. E sendo a  $\beta$ -catenina uma proteína adaptadora de adesão célula-célula e estando seus níveis significativamente elevados em neurônios envelhecidos do córtex pré-frontal e co-localizada com REST, Lu e colaboradores (2014) sugerem que a sinalização de Wnt- $\beta$ -catenina pode contribuir para a indução de REST no envelhecimento do SNC.

Através desses achados, REST mostra-se essencial para a manutenção da viabilidade neuronal no envelhecimento normal tanto do córtex pré-frontal quanto no hipocampo, além de conferir neuroproteção contra doenças neurodegenerativas, como as doenças de Alzheimer (DA) e de Parkinson (PD) (Lu et al, 2014; Yu et al, 2013).

Assim, tendo em vista que o envelhecimento envolve um conjunto de alterações morfo-funcionais progressivas, somado ao comprometimento das funções cerebrais e possível desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, viu-se a necessidade de buscar estratégias neuroprotetoras que amenizem o declínio morfo-funcional do envelhecimento e melhorem a qualidade de vida do idoso.

### 1.2.2. Teoria Mitocondrial Do Envelhecimento

A função primária da mitocôndria é sintetizar adenosina trifosfato (ATP) através da fosforilação oxidativa, conduzido pelos complexos enzimáticos localizados na membrana interna mitocondrial, responsáveis pelo transporte de elétrons (Complexos I, III e IV), formando a cadeia transportadora de elétrons (CTE) ou cadeia respiratória, uma das etapas da respiração celular (Babcock & Wikstrom, 1992; Voet & Voet 1995). O bombeamento de elétrons no espaço intermembrana mitocondrial cria um potencial eletrogênico utilizado pelo complexo V mitocondrial (ATP sintase) para fosforilar as moléculas de ADP em ATP. Isto ocorre através da redução do oxigênio para água no complexo IV. Com o envelhecimento, o transporte dos elétrons não ocorre de forma eficaz, havendo escape desses elétrons na membrana mitocondrial interna, produzindo o ânion superóxido, uma espécie reativa de oxigênio ( $ERO^2$ ) (Ribeiro et al., 2005; Mendelsohn & Larrick, 2013). O ânion superóxido é convertido enzimaticamente em peróxido de hidrogênio que pode ser convertido no radical hidroxil (outra ERO), altamente reativo na presença de metais de transição, contribuindo para o acúmulo de ERO e, consequentemente, causando danos oxidativos às biomoléculas: proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos (Ribeiro et al., 2005; Ben-Porath & Weinberg, 2005; Ferreira & Abreu, 2007).

---

<sup>2</sup> As ERO são popularmente conhecidas como radicais livres.

A hipótese dos radicais livres mitocondriais é uma das bases biológicas do envelhecimento (Bratic & Larsson, 2013; Ziegler, Wiley, Velarde, 2015). O acúmulo de danos oxidativos às biomoléculas no decorrer da vida contribui para o fenótipo envelhecido celular (Harman, 1956), sendo as ERO os principais subprodutos do metabolismo aeróbico mitocondrial (Bratic & Larsson, 2013). O declínio na função mitocondrial ocorre no envelhecimento dos animais, inclusive o homem (Herbener, 1976; Tauchi & Sato, 1968), com redução nas atividades enzimáticas da CTE, antioxidante, e acúmulo de mutação do DNA mitocondrial (Fraga et al., 1990; Alper et al. 1999; Haider et al., 2014; Navarro & Boveris, 2004). O estresse oxidativo, então, entra num ciclo vicioso pró-oxidante.

O estresse oxidativo anormal reduz a taxa de replicação celular (Tan et al, 2014). Assim, o conjunto de alterações senescentes celulares, afetando o funcionamento normal dos órgãos e tecidos, contribui para mecanismos patológicos envolvendo o SNC, como as doenças neurodegenerativas (Mai et al, 2010; Jurk et al, 2012; Tan et al, 2014).

Apesar dos diversos estudos apontando o papel das ERO na senescência celular (Jendrach et al., 2005; Mai et al, 2010; Yoon et al, 2003; McCarroll et al., 2004), Lawless e colaboradores (2012) sugeriram que o aumento na produção de ERO mitocondriais em células senescentes é uma consequência do fenótipo senescente celular (teoria celular do envelhecimento), onde a atividade antioxidante de enzimas como

a superóxido dismutase (SOD) e a catalase (CAT) são insuficientes para contrabalancear o estresse oxidativo.

O exercício físico consegue modular alguns mecanismos celulares e mitocondriais envolvidos no envelhecimento. O exercício físico induz adaptações metabólicas regulando genes mitocondriais no hipocampo, melhorando a oxidação mitocondrial, mas aumentando a atividade das enzimas antioxidantes, deste modo, reduzindo a produção de ERO (Bao et al., 2014; Radák et al., 2001 e 2006; Aguiar et al., 2014; Broskey et al., 2014).

### **1.2.3. Via das Sirtuínas**

As sirtuínas são uma família de proteínas dependentes do dinucleótido de nicotinamida e adenina (NAD<sup>+</sup> em sua forma oxidada, e NADH em sua forma reduzida) com atividade desacetilase de histonas e ADP-ribosiltransferase. Foram identificados sete genes de sirtuínas (SIRT1→SIRT7) envolvidos em vários processos fisiológicos, incluindo expressão genética, reparação do DNA, metabolismo e sobrevivência celular, regulação redox, além de participar nos processos associados ao envelhecimento como doenças inflamatórias crônicas, metabólicas, cardiovasculares, neoplásicas e neurodegenerativas (Park, Mori & Shimokawa, 2013; Michan & Sinclair, 2007; Michan et al., 2010; Houtkooper, Pirinen & Auwerx, 2012; Kim et al., 2007).

Moschen e colaboradores (2013) identificaram maior expressão e conteúdo da proteína SIRT6 no fígado, músculo esquelético e cérebro de humanos e camundongos. Jiang e colaboradores demonstraram em 2013 que a SIRT6 regula a secreção do fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), participando na regulação da transcrição, estabilidade do genoma, metabolismo e no processo de envelhecimento. A SIRT6 encontra-se no núcleo das células de mamíferos (Tennen et al., 2010) e é um componente da via de reparo do DNA por recombinação homóloga e sofre um declínio com o envelhecimento (Mao et al., 2012). Estudos em camundongos machos nocautes para SIRT6 está relacionado ao envelhecimento prematuro, mas uma super-expressão aumenta a sobrevivência e longevidade desses camundongos (Mostoslavsky et al., 2006; Kanfi et al., 2012).

A SIRT7 regula a atividade da RNA polimerase 1 e a biogênese ribossômica, o seu bloqueio induz apoptose em células humanas e também está relacionada ao processo de envelhecimento (Ford et al., 2006). Camundongos nocautes para Sirt7 demonstraram fenótipo de envelhecimento prematuro e reduzida expectativa de vida em aproximadamente 50% (Vakhrusheva et al., 2008).

A SIRT1 estaria relacionada às funções de aprendizagem e memória no hipocampo, plasticidade sináptica, crescimento e sobrevivência de neurônios e proteção contra a toxicidade do peptídeo  $\beta$ -amilóide (Michan et al., 2010; Kim et al., 2007). A SIRT1 reduz as placas ateroscleróticas e protege contra doenças

cardiovasculares (Oellerich & Potente, 2012; Mattagajasingh et al., 2007).

A associação entre as sirtuínas e o desenvolvimento de doenças relacionadas ao envelhecimento e longevidade vêm se destacando nos últimos anos (Guarente, 2013; Kim et al., 2010; Kanfi et al., 2012; Vakhrusheva et al., 2008).

O exercício físico aumenta a expressão de SIRT3 e o conteúdo proteico de SIRT1 no músculo esquelético, melhorando a função da cadeia transportadora de elétrons e estimulando a biogênese mitocondrial em modelos animais (Bayod et al., 2012; Brandauer et al., 2015). Chilton e colaboradores (2014) demonstraram que o exercício físico foi capaz de aumentar a expressão sérica de mRNA de SIRT6 em humanos, mediando vias de reparo aos danos ao DNA. O exercício aumentou a atividade da SIRT1 no hipocampo de ratos (Sarga et al., 2013) e preveniu a redução da expressão da SIRT3 no córtex cerebral de camundongos velhos (Di Loreto et al., 2014).

#### **1.2.4. Via do Fator de Crescimento Semelhante à Insulina Tipo-1 (IGF-1)**

O fator de crescimento semelhante à insulina tipo-1 (IGF-1) é produzido principalmente no fígado através da estimulação pelo hormônio de crescimento e insulina (Bondy et al., 1992; Rotwein et al., 1988). O IGF-1 é abundantemente expresso no desenvolvimento embrionário do SNC estimulando a proliferação e diferenciação de células tronco neurais e gliais (Nieto-Estévez,

Defterali & Vicario-Abejón, 2016). No SNC adulto, a expressão de IGF-1 reduz significativamente (Nieto-Estévez, Defterali & Vicario-Abejón, 2016), sendo a produção e liberação maiores na glia e neurônios no bulbo olfatório, hipocampo, zona subventricular e cerebelo (Bondy et al., 1992; Rotwein et al., 1988).

Esse fator de crescimento tem mostrado uma correlação positiva com o desempenho cognitivo em idosos, sugerindo uma contribuição para a neuroplasticidade induzida pelo exercício, além de favorecer a neurogênese (Sumiyoshi, 2014) no giro denteado do hipocampo (Trejo, 2001; Lezi, 2014), pois o IGF-1 atravessa a barreira hematoencefálica (BHE) ativando a via IGF-1/IGF-1R assumindo um papel neurotrófico (Cassilhas, 2007).

Os mecanismos neuroprotetores mediados pelo IGF-1 envolvem a ativação da via fosfatidilinositol-3-cinase/akt (PI3k/akt), conhecida por estar associada à sobrevivência e proteção celular além de proliferação e diferenciação (Bake et al., 2014). Estudos relatam o papel do IGF-1 na redução da ativação das citocinas pró-inflamatórias mediante eventos isquêmicos cerebrais, reduzindo o volume da área infartada em fêmeas envelhecidas (Bake et al., 2014).

Esse fator de crescimento é um dos fatores envolvidos na expressão do Fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), assim, a redução da sua concentração também diminui a expressão do BDNF (Mitschelen et al., 2011), um dos pilares do envelhecimento do SNC.



O BDNF é o fator neurotrófico mais abundante expresso em diversas áreas do cérebro adulto principalmente no hipocampo (Lipsky & Marini, 2007), onde contribui para o crescimento neuronal, desenvolvimento, plasticidade, sobrevivência, neuroproteção e reparo, aprendizado e funções de memória (Poo, 2001; Kwon et al., 2013). A deficiência do IGF-1 e BDNF implicam na atrofia hipocampal, prejuízos cognitivos e emocionais, redução da atividade anti-inflamatória cerebral e no desenvolvimento de doenças como depressão e doença de Alzheimer (Tapia-Arancibia et al., 2008; Sallaberry et al., 2013; Gibbons et al., 2014; Pons & Torres-Aleman, 2000).

Os efeitos benéficos do exercício físico sobre o declínio neurológico relacionado ao envelhecimento são relatados no estudo de Aguiar e colaboradores (2011), quando ratas velhas (24 meses) foram submetidas a um programa de treinamento físico de quatro semanas consecutivas, o que melhorou a neuroplasticidade, expressão de neurotrofinas e as funções cognitivas das ratas. Yang e colaboradores (2015) demonstraram que um mês de exercício físico em esteira foi capaz de aumentar a neurogênese hipocampal em camundongos velhos, com aumento no número de células progenitoras neuronais e do número de neurônios recém-formados. Curiosamente, Oliff (1998), Chen (2009) e Schmolesky (2013) e seus respectivos colaboradores, demonstraram que uma única sessão de roda de corrida voluntária é capaz de aumentar significativamente a expressão de BDNF no hipocampo de ratos.

### 1.3. AS MUDANÇAS MORFOLÓGICAS-FUNCIONAIS E NEUROLÓGICAS DO ENVELHECIMENTO

O envelhecimento é responsável pelo declínio de diversas funções biológicas. A composição corporal sofre alterações, através da redução da massa muscular esquelética, infiltração de material não contrátil como tecido adiposo e fibroso, caracterizando a sarcopenia presente no envelhecimento (Janssen, Heymsfield e Ross, 2002; Buford et al., 2010; Brooks e Faulkner, 1994; Goodpaster et al., 2008; Goodpaster et al., 2001). Também ocorre a redução da flexibilidade, da mobilidade e da velocidade da marcha e dos reflexos posturais (Evans & Campbell, 1993; van Kan et al., 2009; Afilalo et al., 2010), o que compromete as atividades da vida diária e auto-cuidado, como comer, caminhar, se vestir, tomar banho. Como resultado, tornam-se comuns as quedas da própria altura, fraturas, traumatismos cranianos e períodos longos no leito (Janssen, 2002; CDC, 2008).

A redução da capacidade física destes indivíduos é um forte preditor de eventos cardiovasculares futuros (Dumurgier et al., 2009, 2010; Newman et al., 2006). Esses eventos são acompanhados do envelhecimento contínuo cardiovascular originando diversas alterações como a perda da elasticidade dos vasos, rigidez da artéria aorta, aumento da frequência cardíaca média, hipertensão arterial sistólica e hipertrofia do ventrículo esquerdo, com consequente aparecimento das cardiopatias

hipertróficas (O'Rourke et al., 2010; Dzau & Dzau et al., 2006, Mozaffarian et al. 2015; Duron & Hanon, 2008; Bootsma-van et al., 2002; Hajjar et al., 2015; Palombo & Kozakova, 2016).

O envelhecimento também é responsável pelo declínio da taxa metabólica basal (TMB, responsável por aproximadamente 75% do gasto energético em repouso) e está associada ao aumento do perfil lipídico e da inatividade física (Nelson et al., 1992; Antunes et al. 2005). As mulheres são mais comumente afetadas devido à menopausa e climatério. Nesta fase, ocorre uma redução na produção de hormônios femininos, comprometendo a mineralização e densidade óssea, redistribuição da gordura corporal com maior liberação de ácidos graxos e consequente hiper-insulinemia (Kabir et al., 2005). Ocorrem ainda a perda gradativa da hidratação e elasticidade da pele e cabelos, incontinência urinária e enfraquecimento do assoalho pélvico (Batista et al., 2010; Suckling et al., 2006; Moehrer, Hextall & Jackson; 2007).

Os homens também apresentam redução hormonal durante o envelhecimento, chamado andropausa (Singh, 2013). Na andropausa, os baixos níveis de testosterona e estrogênio aumentam os riscos para o desenvolvimento de doenças ateroscleróticas, aumento da massa gorda e reduzem a massa muscular esquelética e a densidade óssea, com consequente risco de fraturas e quedas (Tivesten et al., 2009). A redução da testosterona livre varia de acordo com a saúde e o estilo de vida do indivíduo e implica na função de órgãos e na qualidade de vida, estando relacionada com a alteração da composição

corporal, osteoporose, fragilidade, obesidade, disfunção erétil, redução da libido, fadiga, alteração cognitiva e distúrbios do sono (Travison et al., 2007; Werner, 1946; Snyder et al., 1999).

A má nutrição amplifica os efeitos deletérios do envelhecimento, como a sarcopenia (Houston et al., 2008; Freeman et al., 2014; Fiocco et al., 2012). A redução na ingestão calórica é comum entre as pessoas envelhecidas tanto nos países desenvolvidos quanto nos em desenvolvimento (Kaiser et al., 2010). A restrição calórica implica na anorexia, enquanto o seu aumento causa obesidade (Baumgartner et al., 2004). O envelhecimento não é a causa da desordem alimentar, mas sim as diversas mudanças que acontecem na vida do idoso: alterações no estilo de vida, redução das atividades diárias e sarcopenia, o desenvolvimento de doenças, fatores sociais e ambientais, redução do paladar, mudança nos níveis de hormônios responsáveis pela fome (ex. grelina), redução da função digestiva comprometendo a mobilidade gástrica, e fatores psicológicos (ex. depressão) (MacIntosh, Morley and Chapman, 2000; Di Francesco et al., 2007; Chapman et al., 2002; Di Francesco et al., 2006; Mir, Zafar and Morley, 2013; Muscaritoli et al., 2010).

Os idosos apresentam queixas psicológicas muito semelhantes às encontradas na depressão, uma consequência das alterações na homeostasia inflamatória cerebral (Godbout et al., 2005; Kelley et al., 2013; Kohman & Rhodes, 2013; Biesmans et al., 2013). O envelhecimento do SNC envolve eventos degenerativos e progressivos em neurônios e glia que

comprometem sua eficiência, tornando-o mais suscetível ao aparecimento de doenças (Jun et al., 2014; Quintanilla, Orellana, von Bernhardt, 2012; Wilms et al., 2007).

### **1.3.1. O Papel da Neuroinflamação no Envelhecimento do SNC**

A neuroinflamação acompanha o envelhecimento do SNC e tem sido amplamente estudada (Sama et al., 2013; van Deursen et al., 2014). De acordo com Sparkman & Johnson (2008), o processo de envelhecimento do cérebro é caracterizado pelo desvio gradativo da homeostasia inflamatória para um estado de pró-inflamação, com mecanismos ainda não totalmente esclarecidos.

A microglia é a principal célula de defesa do SNC e atua como primeira linha de defesa. A microglia, um tipo de célula glial originada de células mielóides, é composta por macrófagos residentes no cérebro e medula espinhal, com predominante localização na substância cinzenta e em maiores concentrações no hipocampo, gânglios basais e substância nigra (Block, Zecca, Hong, 2007). Em condições fisiológicas (na ausência de agressão ou injúria) a microglia mantém seu fenótipo de repouso, exibindo uma morfologia ramificada que está associada à produção de fatores neurotróficos como o IGF-1 e o BDNF (Streit, 2002; Kohman & Rhodes, 2013) além de citocinas anti-inflamatórias para a manutenção da homeostase cerebral (Streit, 2002; Block, Zecca, Hong, 2007). Este fenótipo neuroprotetor é

crucial para a sobrevivência neuronal, participando de processos regenerativos e anti-inflamatórios (Kohman & Rhodes, 2013).

No entanto, a microglia altera sua morfologia (forma ativada) na lesão neurológica, assumindo uma forma ameboide e expressando moléculas de superfície, como CD14, complexo principal de histocompatibilidade ou MHC (do inglês *major histocompatibility complex*), e receptores de quimiocinas (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ) (Cho et al., 2006). Este é o gatilho da resposta inflamatória no SNC, ou neuroinflamação. Os estímulos prejudiciais persistentes externos (ambiente) e/ou internos (por exemplo, agregados protéicos) são reconhecidos pela microglia, sustentando um sistema de retroalimentação positivo, elevando os fatores inflamatórios.

Com o envelhecimento, o sistema imunológico também passa pelo processo de senescência, com consequentes alterações normais na atividade da microglia (Ginaldi et al., 1999; Castle, 2000). Esta apresenta uma reatividade elevada, ou “sensibilizada”, que ao ser estimulada pelo sistema imunológico responde de forma continuada, liberando citocinas pró-inflamatórias que contribuem para uma resposta neuroinflamatória crônica (Perry, Matyszak & Fearn, 1993; Sheffield & Berman 1998; Streit & Sparks 1997; Perry et al., 2007).

O exercício físico aeróbico modula o sistema imunológico, conferindo um papel neuroprotetor (Barrientos et al., 2011; Kohman et al., 2012, 2013). No sistema nervoso periférico e central ocorre a redução da expressão de citocinas pró-

inflamatórias e de moléculas de sinalização celular e induz o aumento das citocinas anti-inflamatórias, com aumento na função fagocitária dos macrófagos no hipocampo de humanos e animais envelhecidos (Barrientos et al., 2011; Lopresti, Hoodb, Drummond, 2013; Di Loreto et al, 2014; Kohut, Boehm, Moynihan, 2001; Kohman et al., 2012, 2013; Sugiura et al., 2000).

Essa ativação crônica microglial desempenha um papel importante na patologia de diversas doenças neurológicas (neurodegenerativas e psiquiátricas), no “comportamento doentio” (do inglês *sickness behavior* - Reichenberg et al., 2001), e nos prejuízos cognitivos, além da sensibilização do sistema imune frente à estímulos internos ou externos (Godbout et al., 2005; Wilms et al., 2007; Sparkman & Johnson, 2008; Frank-Cannon et al., 2009; Ownby, 2010; Kelley & O'Connor, 2013; Kohman & Rhodes, 2013; Biesmans et al., 2013; Shelton et al., 2011; Pimplikar, 2014; Walker, Whetzel, Lue, 2014).

Kohman e colaboradores (2013) demonstraram que o exercício físico pode exercer um efeito anti-inflamatório no SNC de camundongos velhos, atenuando a ativação da micróglia que pode prevenir ou reverter as alterações causadas pelo envelhecimento. O uso da roda de corrida voluntária por um período de oito semanas é modelo experimental de exercício físico muito utilizado (Martin et al., 2014; Kohman et al., 2011; Sugiura et al., 2000; Pham, Brene & Baumann, 2005), acompanhado de benefícios como a redução do estado neuroinflamatório, aumento na expressão de neurotrofinas,

atenuação do comportamento doentio e tipo-depressivo, neurogênese hipocampal e maior sobrevivência desses novos neurônios (Cotman, Berchtold & Christie, 2007; Kohman et al., 2011; van Praag et al., 2005; Sugiura et al., 2000; van Praag et al., 1999; Clark et al., 2010). Todos estes resultados foram obtidos em animais jovens.

Muitos trabalhos reforçam a relação entre a neuroinflamação e alterações comportamentais (Martin et al., 2013; Biesmans et al., 2013; Godbout et al., 2005; Henry et al., 2008; Kohman & Rhodes, 2013; Kelley & O'Connor, 2013). Os prejuízos funcionais evoluem de forma gradativa, primeiro sintomas neurovegetativos (anedonia, mal-estar, fadiga, hipo ou hipersonia, perda de peso, anorexia, diminuição da ingestão de comida e líquidos, desregulação do sono) e depois sintomas neuro-psiquiátricos, diminuição do convívio social, redução da mobilidade, além de efeitos negativos sobre o humor e as funções cognitivas, como a depressão e a demência, respectivamente (Grosse et al., 2014; Setiawan et al., 2015; Sparkman & Johnson, 2008; Martin et al., 2014; Reichenberg et al., 2001, Dantzer & Walker, 2014; Evans & Campbell, 1993; Afilalo et al., 2010). Estes sintomas progridem com o envelhecimento e são agravados por outras doenças comuns no envelhecimento, por exemplo: diabetes melitus, cardiomiopatias, câncer, e obesidade (Simonsick et al., 1998; Beekman et al., 2002, Kelley & O'Connor, 2013).

Louveau e colaboradores (2015) identificaram a presença de vasos linfáticos na meninge dural comunicando células



imunes com o SNC, sendo as citocinas pró-inflamatórias IL-1B, IL-6 e TNF- $\alpha$  cruciais para a comunicação entre o SNC e o sistema imunológico. Alterações basais na atividade dessas citocinas – principalmente a IL-1 $\beta$  – estão intimamente associadas a vários prejuízos das funções neurológicas, também relacionadas às respostas de estresse e podem modificar o comportamento do animal (Sparkman & Johnson, 2008; Dantzer et al., 2008; Blaylock, 2013; Dantzer, 2001). Os mecanismos de como estas citocinas influenciam no comportamento do animal ainda não estão totalmente elucidados.

Essas respostas comportamentais destinam-se a atenuar a replicação de patógenos e eliminá-los a fim de reorganizar as prioridades do hospedeiro. As alterações da resposta imune podem desencadear uma mal adaptação à estas respostas, como ocorre no envelhecimento.

A comunicação do sistema imune com o cérebro envolve quatro vias que atuam paralelamente:

- 1) receptores IL-1 $\beta$  localizados em macrófagos e células endoteliais das vênulas cerebrais (Konsman et al., 2004).

- 2) ativação de nervos aferentes (Bluthé et al., 1994). Luheshi e colaboradores (2000) identificaram que a sinalização aferente do nervo vago medeia a interação das citocinas entre o sistema nervoso periférico (SNP) e o central, mediando ainda o comportamento doentio.

- 3) via humoral, através de receptores *toll-like* (TLR) que residem nos órgãos circunventriculares e o plexo coróide, que respondem ao patógeno produzindo citocinas pró-inflamatórias

(Quan, Whiteside, Herkenham, 1998). Essas citocinas nos órgãos circunventriculares chegam ao cérebro através da barreira hemato-encefálica por difusão (Vitkovic et al., 2001).

4) transporte ativo saturado de citocinas através da barreira hemato-encefálica (BHE) (Banks 2006).

O'Connor e colaboradores (2009 a,b,c) demonstraram que as citocinas pró-inflamatórias TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  ativam a enzima indoleamina2,3dioxygenase (IDO). Esta enzima medeia o desenvolvimento do comportamento tipo-depressivo induzido pela inflamação, mas não interfere na ocorrência da patologia (infecções, etc) (O'Connor et al, 2009). Ela está presente no intestino, pulmão, cérebro, placenta e células do sistema imune (macrófagos e células dendríticas), metabolizando triptofano ao longo da via quinurenina, levando a uma diminuição nos níveis circulantes do triptofano e um aumento dos níveis circulantes de quinurenina. A via metabólica da quinurenina envolve diversas etapas de degradação do triptofano, tendo como produtos finais o ácido quinolínico, ácido picolínico e metabólitos de niacina. Esses produtos estão envolvidos na ativação e supressão do sistema imune – INF $\gamma$ , TNF $\alpha$  e MHCII- respectivamente. O ácido quinolínico é um agonista do receptor de NMDA, sendo a ativação desse receptor possivelmente relacionado aos sintomas depressivos (Berman et al. 2000; Larkin & Beautrais 2011; Maeng & Zarate 2007). O triptofano é um aminoácido essencial necessário para a biossíntese de serotonina e ácido niacínico e

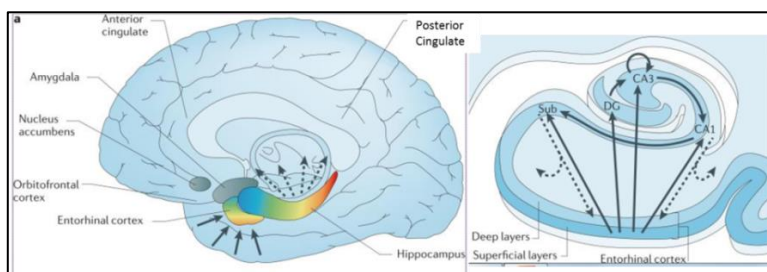
importante para a neurobiologia do humor. A biodisponibilidade de triptofano é fator limitante para a síntese de serotonina.

Em 1999, Blumenthal e colaboradores demonstraram que 16 semanas de exercício físico aeróbico reduziu os sintomas depressivos leves à moderados em pessoas com 50 anos de idade ou mais, um efeito semelhante aos fármacos antidepressivos. Dimeo e colaboradores (2001) investigaram o efeito do exercício físico sobre os sintomas depressivos em pacientes diagnosticados com transtorno depressivo maior conforme critérios do DSM IV e identificaram uma redução dos sintomas depressivos nos participantes. Já Otsuka e colaboradores (2016) identificaram que o exercício físico aeróbico de baixa intensidade aumentou a expressão de c-Fos em neurônios serotoninérgicos nos núcleos dorsais da Rafe de ratos, resultando na redução do comportamento ansioso e tipo-depressivo.

#### 1.4. FACES OPOSTAS: NEUROINFLAMAÇÃO E NEUROGÊNESE & NEUROTROFINAS

Células precursoras neuronais nas zonas subventricular e subgranular do hipocampo promovem a neurogênese desde o desenvolvimento embrionário do SNC e declinam durante o envelhecimento (Kuhn, Dickinson-Anson, Gage, 1996; Spalding et al., 2013; Ben Abdallah et al., 2010). No cérebro adulto, esses novos neurônios apresentam uma hiper-excitabilidade o que provavelmente melhora as suas chances de sobrevivência e

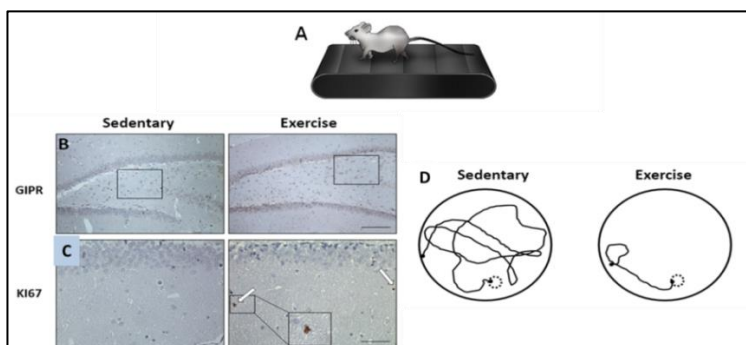
integração no circuito entre o giro denteado (GD) e o *Cornu Ammonis* 3 (CA3) (Figura 1), formando novas conexões. Esses novos neurônios podem atuar em conjunto ou substituição aos neurônios já existentes (Ge, et al., 2007; Akers et al., 2014). Esta propriedade neuroplástica do hipocampo é importante para o estado de humor e a cognição. A microglia, dependendo do fenótipo apresentado, pode modular a neurogênese hipocampal através da produção de neurotrofinas (Streit, 2002; Kohman & Rhodes, 2013; Nakajima et al., 2001).



**Figura 1.** Córtex hipocampal: A) Localização do hipocampo no córtex cerebral, B) Regiões do córtex hipocampal. Legenda: CA1= Corno de Amon 1, CA3= Corno de Amon 3, DG= Giro denteado. Imagem adaptada. Copyright © 2014 Barak, Feldman and Okun. (Small et al., 2011).

O exercício físico estimula a neurogênese hipocampal, exclusivamente no GD, aumentando o volume hipocampal, reduzindo a perda de tecido cerebral e melhorando a cognição (Figura 2). Isto foi demonstrado em seres humanos e animais, inclusive velhos. A neurogênese induzida pelo exercício atenua,

mas não interrompe o envelhecimento do SNC (van Praag, Kempermann, Gage, 1999, et al, 1999; Colcombe and Kramer, 2003; Kohman et al., 2012; Varma et al., 2015; Littlefield et al., 2015). A sobrevivência e integração desses novos neurônios também são maiores em animais exercitados (van Praag et al, 1999).



**Figura 2.** Neurogênese hipocampal. Ilustração da neurogênese nas regiões do giro dentado e CA3 em animais exercitados (B, C). O painel (D) mostra a trajetória para encontrar uma plataforma submersa na tarefa do labirinto aquático de Morris. Vê-se o melhor desempenho cognitivo dos animais velhos exercitados. Imagem adaptada. Legendas: Ki67= proteína marcadora nuclear; GIPR= receptor polipeptídeo insulínico dependente. Copyright © Lippincott Williams & Wilkins. (Figueiredo et al., 2010).

Archer e colaboradores (2011, 2011) demonstraram que o exercício físico é uma intervenção eficaz para reduzir a progressão de doenças neurodegenerativas, tais como as

doenças de Parkinson (DP) e Alzheimer (DA). Essa neuroproteção conferida pelo exercício físico está intimamente associada aos seus efeitos secundários modulando a expressão de neurotrofinas, como o BDNF (Vaynman et al., 2004; Huang et al., 2006; Khabour et al., 2009; Archer et al., 2011, 2011).

Muitas evidências mostram que o exercício físico aumenta a expressão gênica de BDNF hipocampal, estriado e outras regiões corticais minimizando os prejuízos cognitivos relacionados ao envelhecimento além de aumentar a resistência ao estresse oxidativo e, conseqüentemente, otimizando o comportamento doentio (Kohut, Boehm, Moynihan, 2001; Radak et al., 2001, 2006; Cotman et al., 2007; Aguiar et al., 2011; Martin et al., 2013; Gibbons et al., 2014; Zoladz et al., 2014; Vaynman et al., 2004; Huang et al., 2006; Khabour et al., 2009).

Littlefield e colaboradores (2015) demonstraram que o exercício físico diminuiu a neuroinflamação induzida por lipopolissacarídeo bacteriano (LPS). O exercício também reverteu o prejuízo na neurogênese causada pelo LPS. Este efeito foi fortemente associado ao aumento da expressão de BDNF no hipocampo dos animais exercitados.

Novamente, a maioria destas evidências são de estudos realizados em animais naïve jovens e/ou modelos animais de doenças neurológicas (desenvolvidas em animais jovens). Os efeitos do exercício na neuroplasticidade e neuroinflamação do SNC velho ainda são poucos conhecidos, apesar de diversas revisões de literatura defenderem também os benefícios do exercício (e seus mecanismos) para este extremo de faixa etária,

fruto da extrapolação de resultados encontrados em animais adultos.





## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Investigar o efeito do exercício físico na neuroplasticidade e neuroinflamação no hipocampo de camundongos velhos.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliar os efeitos do exercício físico sobre o comportamento doentio, através da exposição às rodas de correr e da tarefa comportamental do campo aberto em camundongos adultos e velhos,
- Avaliar os efeitos do exercício físico sobre o comportamento tipo-depressivo, através do teste comportamental de suspensão pela cauda em camundongos adultos e velhos,
- Investigar os efeitos do exercício físico sobre a expressão gênica de REST, BDNF, IL-1 $\beta$  e IL-10 no hipocampo de camundongos adultos e velhos.



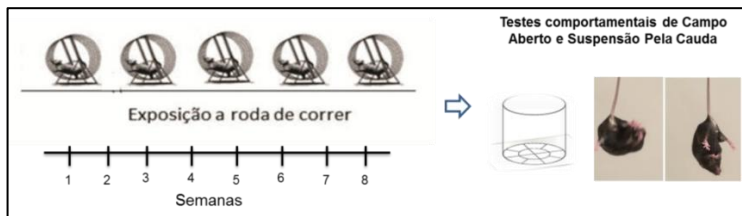
### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 ANIMAIS

Foram utilizados 46 camundongos machos da linhagem C57BL/6, divididos em adultos (4-6 meses,  $26,8 \pm 0,4$  g) e idosos (19-21 meses,  $31,5 \pm 0,5$  g) obtidos da colônia de produção do LABOX (Laboratório de Bioenergética e Estresse Oxidativo), localizado no Departamento de Bioquímica/Centro de Ciências Biológicas/Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). As gerações de animais foram mantidas em gaiolas coletivas de polipropileno (49 x 34 x 16 cm) até o início da pesquisa, sem nenhum tipo de enriquecimento ambiental, sob temperatura controlada  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ , ciclo claro/escuro de 12 horas (liga 7h) e alimentação/água *ad libitum*. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFSC (Protocolo CEUA PP00760).

Para o protocolo experimental (Figura 3), os animais foram divididos por randomização em quatro grupos experimentais:

- Sedentários adultos (AD-SED, n=11),
- Sedentários idosos (ID-SED, n=8),
- Exercitados adultos (AD-EXE, n=13), e,
- Exercitados idosos (ID-EXE, n=14).



**Figura 3.** Representação esquemática do desenho experimental do projeto. Os animais tiveram livre acesso à roda de correr, durante oito semanas. No último dia de exposição às rodas os animais foram submetidos, sem intervalo, aos testes comportamentais de Campo aberto e Suspensão pela cauda. Finalizando os testes, os animais foram eutanasiados para a coleta de amostras cerebrais e musculares para posteriores análises.

Os animais foram isolados durante oito semanas em gaiolas individuais de polipropileno ( $27 \times 18 \times 13$  cm). As gaiolas dos grupos EXE (adulto e idoso) foram equipadas com rodas de corrida (RC, figura 4A) para estimular o exercício voluntário (Aguiar, et al., 2013, Aguiar, et al., 2014). As RC serão descritas no item 3.1.2. As gaiolas dos grupos SED (adulto e idoso) receberam rodas travadas (figura 4B) para equilibrar o viés de enriquecimento ambiental. Um animal do grupo ID-EXE morreu após o isolamento.

### 3.1.1 Controle do consumo de ração e massa corporal

A massa corporal dos animais e o consumo de ração foram avaliados semanalmente, entre às 13h e 15h.

### 3.1.2 Exercício na roda de corrida voluntária

As rodas de correr (12.7 cm de diâmetro) foram fixadas dentro das gaiolas dos animais, sem mudança de posição durante as 8 semanas de experimento. A distância percorrida pelos animais foi mensurada diariamente através de odômetros digitais (Figura 4C) acoplados às rodas (Aguiar et al., 2013, 2014).



**Figura 4.** Modelo experimental de atividade física em roda de correr. (A) Gaiola com roda de correr livre. (B) Gaiola com roda de correr bloqueada. (C) Odômetro digital.

## 3.2. COMPORTAMENTO

Os animais foram habituados durante 1 hora antes dos testes comportamentais, os quais foram realizados durante a fase clara do ciclo (9h -17h). Os experimentos foram analisados na plataforma ANY-maze™ (versão 4.99).

### **3.2.1. Teste de campo aberto**

O teste de campo aberto avalia a locomoção do animal. O teste foi realizado individualmente com cada animal durante 15 minutos de livre exploração em uma arena circular (diâmetro 60cm). O teste foi gravado em vídeo por uma câmera posicionada 1,0 m de distância acima da área de observação. Foram avaliados os seguintes parâmetros: distância percorrida (metros), número de levantamentos sobre as patas posteriores, velocidade média e máxima (cm/s), e o tempo de permanência no centro (s) e na periferia (s).

### **3.2.2. Teste de suspensão pela cauda**

Descrito por Steru e colaboradores, em 1985, esta metodologia possibilitou determinar a característica de atividade individual do animal para reagir a uma situação de estresse. O teste de suspensão pela cauda tornou-se o teste mais comumente usado para analisar a atividade tipo antidepressiva (Leone et al, 2014), consistindo em prender verticalmente o animal pelo terço final da cauda e submetendo-o à um estresse de curto prazo, sendo analisado a agitação (tentativa de escape) ou a imobilidade (comportamento depressivo), avaliando ainda a latência para o primeiro episódio imóvel e o tempo total de imobilidade. Os camundongos foram visualmente e acusticamente isolados, sendo avaliados individualmente e

suspensos por uma fita adesiva à 50 cm do chão, pelo terço distal da cauda (1cm). o teste foi vídeo-gravado por 6 minutos.

### 3.3. PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

#### 3.3.1. Extração de RNA total

O isolamento do RNA total foi realizado a partir de amostras de hipocampo de todos os grupos pelo método TRIzol®/clorofórmio/isopropanol de acordo com as especificações do fabricante. Após homogeneização das estruturas com 200 µL do reagente TRIzol® foi realizado a separação da fase aquosa pela adição de 0,2 mL de clorofórmio por centrifugação (10.000 x g) por 15 minutos a 4°C. Após o término da centrifugação a fase aquosa foi coletada (sobrenadante) sendo desprezada a fase que continha o TRIzol® /clorofórmio. A precipitação do RNA total foi realizada com adição de 0,5 mL de isopropanol absoluto na fase aquosa coletada. As amostras foram incubadas a temperatura ambiente por 10 minutos e uma nova centrifugação foi realizada (10.000 x g por 10 minutos a 4°C). Em seguida, o RNA precipitado (pellet) foi lavado com etanol 75% em água DEPC, seguido por centrifugação (5.000 x g por 5 minutos a 4°C) e posteriormente resuspendido em 20 µL de água DEPC e armazenados a -80°C. A quantidade e pureza do RNA extraído foi estimada em aparelho de espectrofotômetro, NanoDrop, a 260nm e 280nm.

### **3.3.2. Síntese de DNA complementar (cDNA)**

O cDNA foi sintetizado a partir da transcrição reversa de 1µg de RNA, utilizando o kit “M-MLV Reverse Transcriptase” (Sigma) de acordo com as instruções recomendadas pelo fabricante. O cDNA foi gerado em uma reação com volume final de 20 µL contendo tampão M- MLV transcriptase reversa, 0,1 M DTT, 20 U RNase OUT, 0,25 µg/ml Randon primer , 10mM dNTP e 400U de M-MLV transcriptase reversa. Inicialmente, a mistura de RNA, água e iniciador foi incubada a 65°C por 15 minutos para promover a abertura de possíveis estruturas secundárias. A seguir a reação de síntese de cDNA foi realizada com uma primeira incubação de 10 minutos a temperatura ambiente, seguida de uma incubação a 37°C por 50 minutos. Após o termino da reação o cDNA sintetizado foi armazenado a -20°C. A eficiência de síntese e a qualidade do cDNA foram verificadas através do aparelho NanoDrop a 260nm e 280nm.

### **3.3.3. Padronização dos Primers**

Foram testadas as concentrações de 1:10, 1:20, 1:200, 1:2000, 1:20000 e 1:200000 e 1 µg de RNA total para ser transcrita em cDNA na reação da Transcriptase Reversa (RT), a fim de selecionar a melhor concentração para a amplificação da expressão gênica.



### 3.3.4. Quantificação da expressão gênica por Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativo em Tempo Real (RT-PCR)

Foram estudados as expressões dos genes REST e BDNF e genes envolvidos no estado inflamatório (IL-1 $\beta$  e IL-10). Como controle interno da amplificação por PCR foi empregado  $\beta$ -actina. As reações foram realizadas em duplicata. Os iniciadores (primers) utilizados foram desenhados utilizando o programa “BLAST” disponível em: <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>, de acordo com os exons específicos para cada proteína (Tabela 1).

Tabela 1. Sequência de <i>Primers</i> utilizada	
<b>Gene b-actina</b>	
Sequência iniciadora ( <i>Forward</i> )	5'GGAGATGGCCACTGCCGCAT 3'
Sequência iniciadora ( <i>Reverse</i> )	5'ACGAGCTCAGTAACAGTCCGCCTA3'
<b>Gene Interleucina 10 (IL-10)</b>	
Sequência iniciadora ( <i>Forward</i> )	5' ATCATTTCCGATAAGGCTTGG 3'
Sequência iniciadora ( <i>Reverse</i> )	5' TGCTATGCTGCCTGCTCTTA 3'
<b>Gene Interleucina 1b(IL-1b)</b>	
Sequência iniciadora ( <i>Forward</i> )	5' TCATTGTGGCTGTGGAGAAG 3'
Sequência iniciadora ( <i>Reverse</i> )	5' AGGCCACAGGTATTTGTCG 3'
<b>(BDNF)</b>	
Sequência iniciadora ( <i>Forward</i> )	5' TGCAGGGGGCATAGACAAAAG 3'
Sequência iniciadora ( <i>Reverse</i> )	5' TGAATCGCCAGCCAATTCTC 3'
<b>REST</b>	
Sequência iniciadora ( <i>Forward</i> )	5'TGT TTCCGC CAG TGG TAT TCG CT-3'
Sequência iniciadora ( <i>Reverse</i> )	5'AGC CAC AGC GATCACAGC GGA TG-3';

Nos sistemas com volume final de 15  $\mu\text{L}$  foram adicionados 1  $\mu\text{L}$  do cDNA sintetizado, 7,5  $\mu\text{L}$  de SYBR Green Master Mix Applied Science), 1  $\mu\text{L}$  dos iniciadores específicos (Primers) e q.s.q. de água DEPC. As reações foram realizadas no equipamento ABI PRISM 7900HT (Applied Biosystems), localizado no Laboratório Multiusuário de Estudo em Biologia (LAMEB), UFSC. As condições das reações realizadas foram: 50°C por 2 minutos, desnaturação do cDNA, seguido de 40 ciclos de 95°C por 10 segundos e 60°C por 1 minuto. As análises das curvas de melting foram realizadas em rampa de aquecimento de 65°C a 95°C com 25 aquisições por grau. Os resultados foram analisados utilizando o software Sequence Detection Systems (SDS) versão 2.4. Para o cálculo da quantidade relativa das transcrições nas amostras estudadas, utilizou-se o método limiar crítico comparativo  $2^{-\Delta\text{Ct}}$ . Neste método, a média do Ct do gene de interesse é subtraída pela média do Ct do controle interno ( $\beta$ -actina), resultando em um  $\Delta\text{Ct}$ . Para o cálculo da expressão substituímos o valor de  $\Delta\text{Ct}$  obtido na fórmula  $2^{-\Delta\text{Ct}}$ . Os números finais obtidos são apresentados como razão entre a expressão do gene de interesse em relação ao gene de controle interno. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  EPM de 5 animais independentes realizados em duplicata.

### **3.3.5. Mensuração da Atividade Enzimática da Cadeia Respiratória – Determinação do Complexo IV Mitocondrial (Citocromo C oxidase)**

Para a mensuração da atividade enzimática do complexo IV da cadeia respiratória, o músculo esquelético (quadríceps) foi homogeneizado em dez volumes de tampão fosfato de potássio 5mM, pH 7,4, contendo sacarose 300 mM, MOPS 5 mM, EGTA 1 mM e albumina sérica bovina 0,1%. Posteriormente, o homogeneizado foi centrifugado a 3.000 x g durante 10 minutos a 4°C. A atividade do complexo IV foi determinada pela mensuração da oxidação do citocromo c lido a 550 nm (Rustin et al., 1994) no espectrofotômetro Varian Cary 50 (Varian, Inc., Palo Alto, CA, USA), método aperfeiçoado e modificado por Latini e colaboradores (2005). O resultado foi expresso como  $\eta$ mol/mg de proteína/minuto.

### **3.3.6. Determinação de Proteína**

As concentrações de proteína foram determinada segundo método de Lowry et al. (1951), usando albumina sérica bovina como padrão.

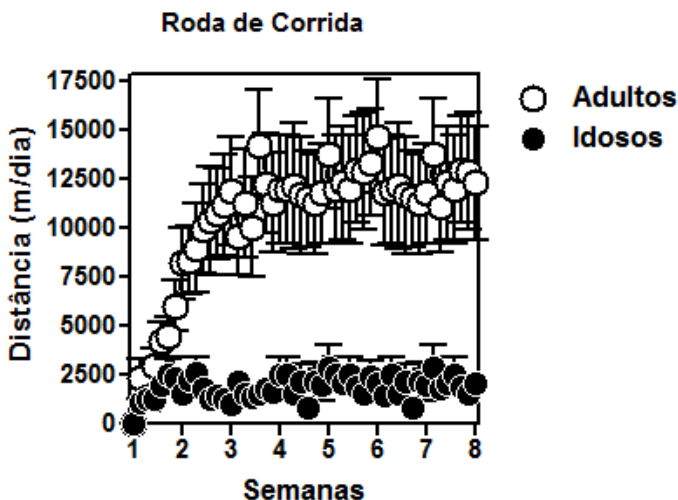
### 3.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram descritos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). A inferência foi realizada através de teste t de Student ou análise da variância (ANOVA) de duas vias ou para medidas repetidas, seguidos do teste post hoc de Bonferroni na presença de uma diferença significativa. A diferença foi considerada significativa quando  $P < 0,05$ .

## 4. RESULTADOS

### 4.1. RODA DE CORRIDA

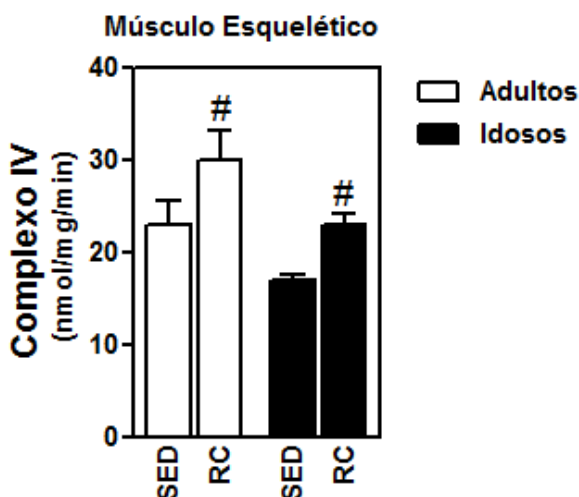
Os animais aumentam gradativamente a distância percorrida nas RC até atingirem um platô após a quarta semana ( $12.4 \pm 0.3$  km/dia), como observado na figura 5. Os animais velhos percorreram uma média de  $2.1 \pm 0.2$  km/dia, indicando um comprometimento motor consequente do envelhecimento ( $F_{1,336} = 4,2$ ;  $p < 0,05$ ; Figura 5).



**Figura 5.** Distância percorrida na roda de corrida voluntária – média (m/dia). Os dados representam a média  $\pm$  EPM. Adultos em círculo aberto e idosos em círculo fechado. \* $p < 0,05$  (ANOVA para medidas repetidas).

## 4.2. O EXERCÍCIO FÍSICO MELHOROU A ATIVIDADE MITOCONDRIAL MUSCULAR DOS ANIMAIS

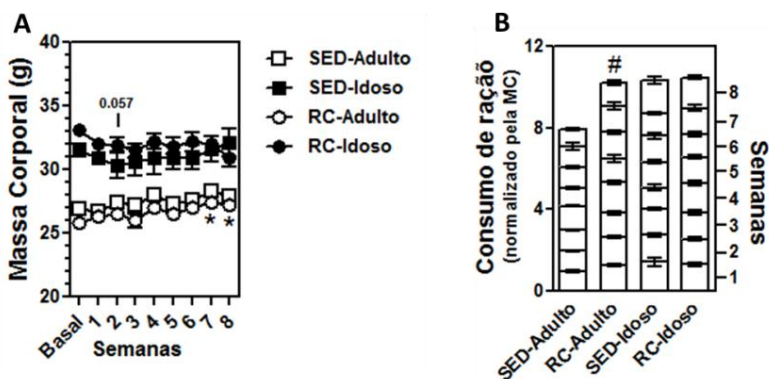
A figura 6 nos mostra a atividade enzimática da citocromo oxidase – ou complexo IV – mitocondrial em amostras de músculo esquelético (quadríceps). Oito semanas de exercício físico aumentaram significativamente a atividade desta enzima ( $F_{1,20} = 8,7$ ;  $p < 0,05$ ; Figura 6), demonstrando a adaptação biológica do exercício físico.



**Figura 6.** Atividade enzimática do complexo IV mitocondrial no músculo quadríceps. Os dados representam a média  $\pm$  EPM. \* $P < 0,05$  (ANOVA de 2 vias seguido de post hoc Newman-Keuls); \*  $p < 0,05$  vs adultos; #  $p < 0,05$  vs sedentários.

### 4.3. EFEITO DO EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE A MASSA CORPORAL

A massa corporal dos adultos do grupo controle aumentou nas duas últimas semanas em comparação com a primeira ( $F_{(8,312)} = 2.4$ ,  $p < 0.05$ ). Os animais velhos apresentam massa corporal significativamente maior que os animais adultos ( $F_{(1,312)} = 66$ ,  $p < 0.05$ , Figura 6A). Foi observada uma redução “borderline” na massa corporal dos animais velhos nas três primeiras semanas ( $F_{1,39} = 66,67$ ;  $p = 0,057$ ; Figura 7A), talvez um efeito do isolamento que deva ser discutido em experimentos futuros.



**Figura 7.** Controle semanal da massa corporal (A) e do consumo de ração (B) dos animais. Os dados representam a média  $\pm$  EPM. \* $P < 0,05$  (ANOVA para medidas repetidas seguido de teste post hoc Bonferroni). \*  $p < 0,05$  vs adultos; #  $p < 0,05$  vs

sedentários. Legenda: MC = massa corporal, RC: roda de corrida.

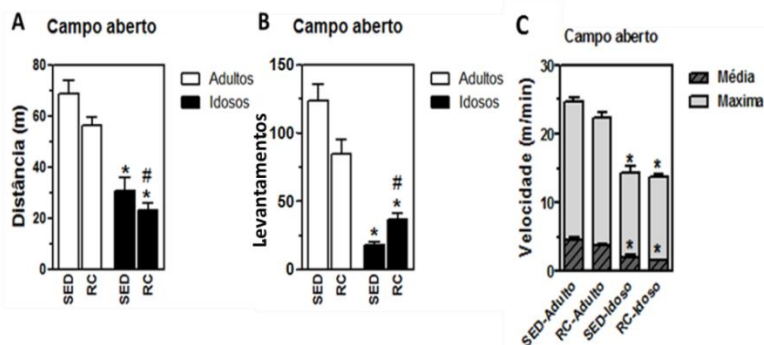
Os camundongos adultos submetidos ao exercício apresentaram aumento no consumo de ração ( $F_{1,37} = 9,8$ ;  $p < 0,05$ ; Figura 7B), mas não apresentaram ganhos de massa corporal. O exercício não teve efeito sobre a massa corporal dos animais velhos.

#### 4.4. EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE O COMPORTAMENTO TIPO-DOENÇA

Ao avaliarmos o efeito motor do exercício físico sobre o envelhecimento no teste de campo aberto, verificamos que a distância percorrida pelos animais velhos foi menor que dos animais adultos. A função motora dos velhos (SED e EXE) foi prejudicada pelo envelhecimento para as variáveis do campo aberto: deslocamento ( $F_{1,38} = 67,1$ ;  $p < 0,05$ ; Figura 8A), número de levantamentos sobre as patas posteriores ( $F_{1,33} = 64,1$ ;  $p < 0,05$ ; Figura 8B), e velocidades média e máxima ( $F_{1,34} = 63,5$ ;  $p < 0,05$ ; Figura 8C)., quando comparados aos adultos.

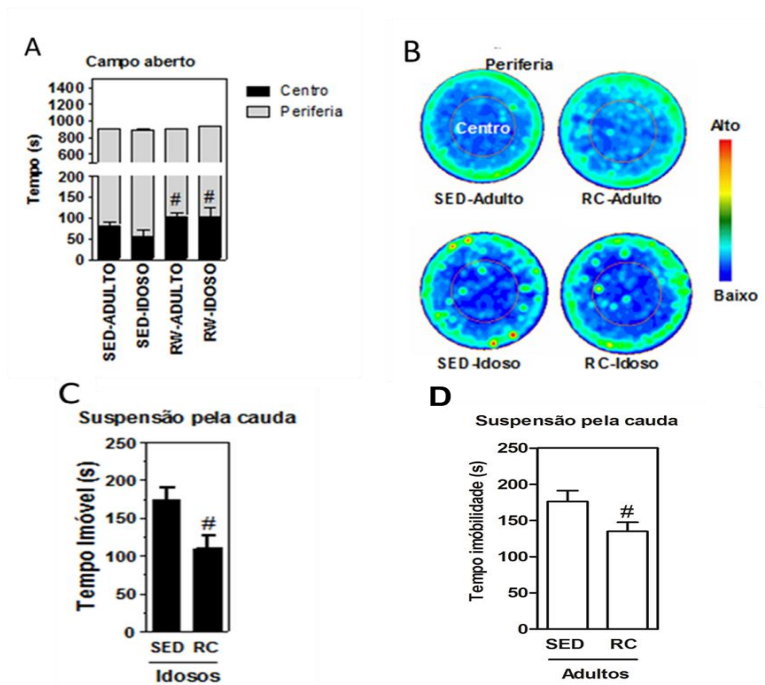
O exercício melhorou o número de levantamentos nos velhos ( $F_{1,33} = 9,2$ ;  $p < 0,05$ ; Figura 8B) comparado ao seu par sedentário.





**Figura 8.** Efeito do exercício físico na exploração do campo aberto. Os dados representam a média  $\pm$  EPM. \* $p < 0,05$  (ANOVA de 2 vias seguido de teste post hoc Newman-Keuls). \*  $p < 0,05$  vs adultos; #  $p < 0,05$  vs sedentários. Legenda: SED= sedentários; RC= roda de corrida.

Os animais exercitados permaneceram mais tempo no centro do campo aberto, sugerindo um efeito ansiolítico do exercício ( $F_{1,35} = 4,7$ ;  $p < 0,05$ ; Figura 9A). Esse comportamento pode ser comprovado através dos plots de ocupação (Figura 9B). As áreas vermelhas indicam maior tempo de permanência numa determinada região do campo aberto enquanto as áreas azuis indicam menor tempo de permanência. Verificamos que os animais velhos sedentários moveram-se menos no campo aberto (pontos em vermelho/amarelo) e o exercício modificou esse comportamento (pontos em azul-claro).



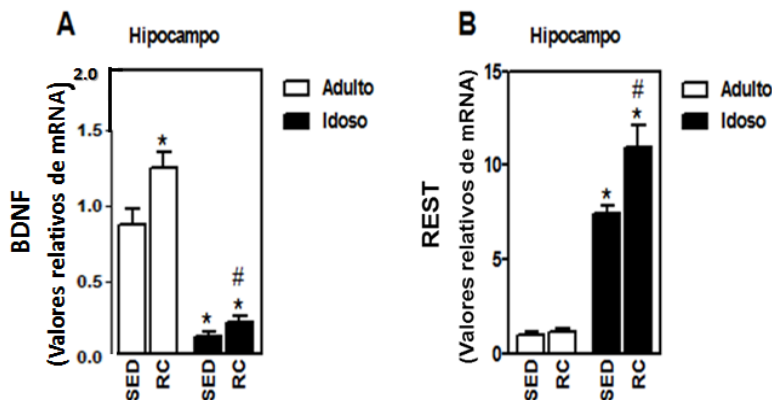
**Figura 9.** Efeito do exercício físico sobre os comportamentos de ansiedade e tipo-depressivo no campo aberto e teste de suspensão pela cauda. Os dados representam a média  $\pm$  EPM. \* $p < 0,05$  (ANOVA de 2 vias seguido de teste post hoc Newman-Keuls). \*  $p < 0,05$  vs adultos; #  $p < 0,05$  vs sedentários

O teste comportamental de suspensão pela cauda foi utilizado para verificar o comportamento tipo-depressivo nos animais velhos separadamente dos animais adultos, pois os velhos demonstraram prejuízo locomotor no campo aberto. Assim, os animais adultos utilizados como controles não seriam

adequados para esta comparação. O exercício não modificou a latência ( $SED = 67.4 \pm 11.5$ -s,  $EXE = 75.9 \pm 5.4$ -s,  $t_{(15,5\%)} = 0.7$ ) ou o número de episódios de imobilidade ( $SED = 10 \pm 1.7$ ,  $11.1 \pm 1.4$ ,  $t_{(15,5\%)} = 0.5$ ), mas diminuiu o tempo de imobilidade no teste da suspensão pela cauda no grupo idoso ( $t_{(15,5\%)} = 2.4$ ,  $p < 0.05$ , Figura 9C). No entanto, o exercício também diminuiu o tempo de imobilidade dos adultos no teste de suspensão pela cauda ( $t_{(15,5\%)} = 2.6$ ,  $p < 0.05$ , Figura 9D).

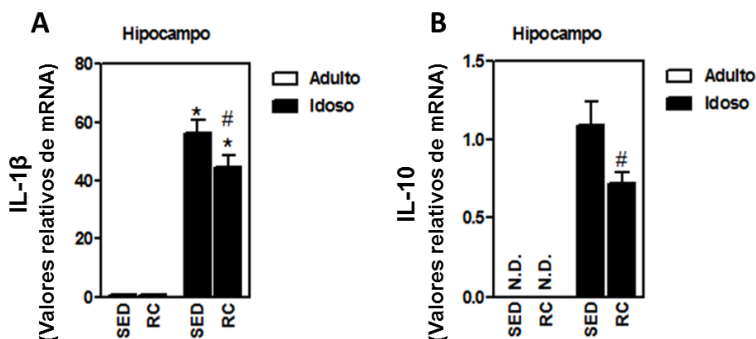
#### 4.5. EFEITOS DO EXERCÍCIO NA EXPRESSÃO DE GENES ASSOCIADOS À NEUROPLASTICIDADE E NEUROINFLAMAÇÃO

O envelhecimento reduziu a expressão de BDNF no hipocampo ( $F_{(1,20)} = 133.4$ ,  $p < 0.05$ , Figura 10A), mas aumentou a expressão do fator REST ( $F_{(1,16)} = 182.4$ ,  $p < 0.05$ , Figura 10B). Oito semanas de exercício físico aumentou a expressão tanto de BDNF ( $F_{(1,20)} = 5.2$ ,  $p < 0.05$ , Figura 10A) quanto de REST ( $F_{(1,16)} = 8.1$ , Figura 10B) no hipocampo dos animais velhos.



**Figura 10.** Efeitos do exercício físico sobre a expressão gênica de BDNF e REST. Os dados representam a média  $\pm$  EPM. \* $p < 0,05$  (ANOVA de 2 vias seguido de teste post hoc Bonferroni e Newman-Keuls). \*  $p < 0,05$  vs adultos; #  $p < 0,05$  vs sedentários.

O hipocampo dos animais velhos apresentou elevada expressão de mRNA para IL-1 $\beta$  ( $F_{(1,20)} = 5.1$ ,  $p < 0.05$ , Figura 11A) e para IL-10 comparados aos animais adultos. Apesar das altas concentrações de cDNA utilizadas no experimento (Seção Materiais e Métodos), a IL-10 não foi detectada no hipocampo dos animais adultos, somente no dos velhos. O exercício físico reduziu a expressão de ambas interleucinas IL-1 $\beta$  ( $F_{(1,20)} = 5.1$ ,  $p < 0.05$ , Figura 11A) e IL-10 ( $t_{(8,5\%)} = 3.4$ ,  $p < 0.05$ ; Figura 11B) no hipocampo dos animais velhos.



**Figura 11.** Efeitos do exercício físico sobre a expressão de mRNA das interleucinas IL-1 $\beta$  e IL-10. Os dados representam a média  $\pm$  EPM. \* $p < 0,05$  (ANOVA de 2 vias seguido de teste post hoc Bonferroni e Newman-Keuls). \*  $p < 0,05$  vs adultos; #  $p < 0,05$  vs sedentários. Legenda: ND= não detectado.

Não houve correlação significativa entre os resultados das expressões de BDNF, REST, IL-1 $\beta$  e IL-10 no hipocampo dos animais.



## 5. DISCUSSÃO

O envelhecimento é um processo biológico contínuo da vida, desde o nascimento até a morte, caracterizado pelo declínio funcional dos tecidos e órgãos através de alterações morfofuncionais, inclusive do SNC (Santos, 2003; Rowe & Kahn, 1998; Baltes & Smith, 1995).

A sociedade está envelhecendo e a projeção da população idosa está aumentando universalmente, nos países desenvolvidos e em desenvolvimento. A prevalência da inatividade física é maior em indivíduos idosos e atua como um fator de risco moderado para o desenvolvimento de várias doenças (WHO, 2015).

O exercício físico regular diminui a mortalidade e morbidade das doenças de todas as causas. A atividade e exercício físico como modificadores não farmacológicos do estilo de vida têm se mostrado promissores na atenuação dos prejuízos funcionais causados pelo envelhecimento (Kraemer, Hahn & McAuley, 2000; Kraemer et al., 1999). Os benefícios do exercício físico sobre o declínio neurológico no envelhecimento ocorrem através da melhora na função músculo-esquelética, cardiovascular, pulmonar, endócrina e adaptações neurolásticas, como reportado em estudos clínicos ou experimentais (Maass et al., 2015; Rogers & Evans, 1993; Telenius et al., 2015; Chou et al., 2012; Kohman et al., 2013; Yang et al., 2015; Mojtahedi et al., 2013; Aguiar et al., 2014). Outro efeito do exercício físico é a melhora da neuroplasticidade

e da homeostasia inflamatória do SNC de adultos (van Praag et al, 1999; Di Loreto et al, 2014; Sampedro-Piquero et al, 2013; Groves-Chapman et al., 2011).

### 5.1. OS EFEITOS MOTORES, ANSIOLÍTICOS E ANTIDEPRESSIVOS DO EXERCÍCIO EM CAMUNDONGOS IDOSOS:

No presente estudo, os animais tiveram livre acesso às rodas por 8 semanas e avaliamos o efeito do exercício físico sobre a função motora, comportamento ansiogênico e tipo-depressivo e a neuroplasticidade de animais velhos.

O comportamento tipo-depressivo é característico do envelhecimento em reflexo às respostas pró-inflamatórias do SNC (ex.: microglia ativada) mediadas pelo hipocampo (Martin et al., 2013; Godbout et al., 2005; Kohman & Rhodes, 2013; Kelley & O'Connor, 2013). Verificamos que os animais velhos apresentaram redução da atividade locomotora tanto nas rodas de correr como campo aberto, além da redução da velocidade em comparação aos adultos, demonstrando prejuízo locomotor (Kohman et al., 2012, 2013; Shoji et al., 2016). A atividade exploratória dos animais velhos reduziu e o tempo de permanência na periferia do campo aberto aumentou, em comparação aos grupos adultos, caracterizando um comportamento ansiogênico. A redução da atividade locomotora



e exploratória em animais velhos também foi observado por Chen (2015) e Shoji (2016) e seus colaboradores.

O exercício físico figura como estratégia para atenuar ou prevenir os efeitos do envelhecimento sobre a neuroinflamação e o comportamento tipo-depressivo (Littlefield et al., 2015; Kohman & Rhodes, 2013; Cotman et al., 2002, 2007).

Verificamos que o exercício na roda de corrida melhorou a capacidade exploratória dos animais velhos através do aumento do número de levantamentos, aumento da permanência no centro do campo e maior mobilidade (verificada pelo plot de ocupação), amenizando o perfil ansiogênico e tipo-depressivo de forma similar aos modelos animais de neuroinflamação induzida por LPS (Martin et al., 2013; Cotman & Berchtold, 2002).

Por sua vez, na tarefa suspensão pela cauda, animais velhos exibem um prolongado tempo imóvel, menor latência para o primeiro episódio imóvel e maior número de episódios imóveis, comparado aos adultos (Martin et al., 2013), configurando um comportamento tipo-depressivo. Neste trabalho, o exercício físico apresentou efeito antidepressivo apenas no tempo total de imobilidade dos animais velhos. Estes resultados estão de acordo com os achados de Goes et al (2014), corroborando os efeitos antidepressivos do exercício nas rodas de correr também em jovens, mas também em animais velhos.

Os resultados apresentados sugerem um efeito antidepressivo e ansiolítico do exercício físico. As tarefas comportamentais (campo aberto e suspensão pela cauda) indicativas de ansiedade e depressão apresentaram melhor

resposta nos grupos exercitados, inclusive os velhos, foco deste trabalho. Estudos prévios em roedores velhos demonstram resultados semelhantes (Aguilar et al., 2014; Cunha et al., 2013), reforçando os efeitos antidepressivos e ansiolíticos do exercício físico regular.

## 5.2. OS EFEITOS ANTI-INFLAMATÓRIOS DO EXERCÍCIO NO HIPOCAMPO DE ANIMAIS VELHOS:

No processo de envelhecimento, ocorre a perda gradativa da homeostasia inflamatória cerebral (Jun et al., 2014; Sama et al., 2013; van Deursen et al., 2014; Ginaldi et al., 1999; Castle, 2000). O cérebro evolui para um estado neuroinflamatório crônico, com consequente prejuízo cognitivo e do estado de humor (Godbout et al., 2005; Kelley et al., 2013; Kohman & Rhodes, 2013; Biesmans et al., 2013).

Sparkman & Johnson (2008) demonstraram que o estado inflamatório do SNC interfere no comportamento do animal, caracterizando um comportamento semelhante à depressão. A neuroinflamação também é observada em doenças neurodegenerativas, como as doenças de Parkinson e de Alzheimer (Wilms et al., 2007; Walker et al., 2015). O exercício físico mostra-se um importante modulador da atividade inflamatória do SNC de animais adultos (Kohman et al., 2012). Devido a relação entre as alterações comportamentais tipo-depressivas e a neuroinflamação, investigamos o efeito do

exercício físico sobre as expressões das citocinas IL-1 $\beta$  (pró-inflamatória) e IL-10 (anti-inflamatória) no hipocampo de camundongos velhos.

As evidências demonstram que animais velhos “sadios” apresentam elevada expressão de IL-1 $\beta$  e IL-10 no SNC, um indicativo de neuroinflamação crônica (Shoji et al., 2016; Kohman et al., 2012, 2013; Boehme et al., 2014), de acordo com os resultados obtidos neste trabalho. Oito semanas de exercício reduziram a expressão da IL-1 $\beta$  e da IL-10 no hipocampo dos camundongos velhos, reforçando o papel anti-inflamatório do exercício físico regular no SNC de animais velhos. Trabalhos anteriores demonstraram que o exercício físico atenua a ativação da microglia e concentração de citocinas inflamatórias no hipocampo de camundongos velhos ou em modelos de neuroinflamação induzida por LPS (Kohman et al., 2012, 2013; Littlefield et al., 2015).

### 5.3. A NEUROPLASTICIDADE INDUZIDA PELO EXERCÍCIO NO HIPOCAMPO DE ANIMAIS VELHOS

O envelhecimento do SNC também se caracteriza pela redução na expressão e conteúdo de neurotrofinas, comprometendo a sobrevivência neuronal e também modificando o humor (Tapia-Arancibia et al., 2008; O'Connor KG et al., 1998; Vestergaard et al., 2014).

Alguns autores sugerem que o exercício pode reduzir a progressão de doenças neurodegenerativas, como as doenças de Parkinson e de Alzheimer, devido ao aumento na expressão e concentração de neurotrofinas no SNC, como IGF-1 e BDNF, ambos sinalizadores da neurogênese no hipocampo (Vaynman et al., 2004; Huang et al., 2006; Khabour et al., 2009; Maass et al., 2015; Voss et al., 2013).

O BDNF é a principal neurotrofina no hipocampo que atua na plasticidade sináptica, proteção neuronal, e neurogênese (Poo, 2001; Kwon et al., 2013; Aguiar et al., 2011; Erickson et al., 2011; Schmidt-Kastner, Wetmore & Olson, 1996). A deficiência do IGF-1 e BDNF implicam na atrofia hipocampal, prejuízos cognitivos e emocionais, redução da atividade anti-inflamatória cerebral e no desenvolvimento de doenças como depressão e doença de Alzheimer (Tapia-Arancibia et al., 2008; Sallaberry et al., 2013; Gibbons et al., 2014; Pons & Torres-Aleman, 2000). Nossos resultados demonstram que exercício aumentou a expressão de BDNF no hipocampo dos animais adultos e velhos, associado à melhora no comportamento doentio. A literatura é robusta quanto aos efeitos do exercício físico no aumento da disponibilidade de BDNF no hipocampo, estimulando a neurogênese e proporcionando sobrevivência desses novos neurônios, além de melhorar as funções cognitivas (Erickson et al., 2011; Aguiar et al., 2011; Vaynman et al., 2004, 2006; Griffin et al., 2011).

O fator REST foi inicialmente descrito pela sua indução na formação do tubo neural durante o desenvolvimento

embrionário, além de regular a diferenciação de neurônios e glia, plasticidade sináptica e crescimento axonal nesse período do desenvolvimento do SNC (Soldati et al., 2012; Zhao, et al., 2016). Esse fator reprime a transcrição de genes através do recrutamento de enzimas que modificam a cromatina (como histonas desacetilases e metiltransferases) em sítios de ligação no DNA que consiste em 8 dedos de zinco (Huang, Myers & Dingle, 1999). Em condições fisiológicas, a proteína huntingtina é altamente expressa em neurônios no SNC, sequestrando o REST do núcleo para o citoplasma e controlando a transcrição de genes neuronais regulados pelo RE1/NRSE, como, por exemplo, a transcrição do gene BDNF (Schiffer et al., 2014). A expressão da proteína huntingtina mutante em pacientes com doença de Huntington faz com que o REST entre patologicamente no núcleo celular, ligando-se ao RE1, recrutando co-repressores, inativando genes neuronais e dessa forma inibindo a transcrição do BDNF (Zuccato et al., 2003). Já em humanos e modelos animais de DA e outras doenças neurodegenerativas (como demência com corpos de Lewy) o fator REST permanece no citoplasma e co-localiza-se com autofagossomos, induzindo a autofagia e favorecendo a neurodegeneração (Lu et al., 2014). O RE1/NRSE é encontrado em alguns genes específicos neuronais, como neurotrofinas (ex.: BDNF), canais iônicos e receptores de neurotransmissores (Bruce et al., 2004).

Verificamos uma baixa expressão do fator REST no hipocampo de camundongos adultos em comparação aos velhos.

Além disso, o exercício não modificou a expressão de REST no hipocampo dos camundongos adultos. Alguns trabalhos recentes identificaram a presença de REST em baixa concentração no hipocampo adulto, principalmente em células pós-mitóticas em resposta à insultos isquêmicos ou epiléticos, ou até mesmo na diferenciação de células-tronco adultas e na neurogênese (Palm et al., 1998; Calderone et al., 2003; Sun et al., 2005; Gao et al., 2011). Nossos resultados corroboram estes achados prévios.

Em 2014, Lu e colaboradores detectaram altas concentrações de REST no hipocampo e córtex pré-frontal de idosos saudáveis sugerindo o papel neuroprotetor do REST, possivelmente devido ao aumento da sinalização da Wnt- $\beta$ -catenina decorrente do aumento do estresse oxidativo associado ao envelhecimento. A via de sinalização da Wnt inibe a fosforilação e degradação da  $\beta$ -catenina, que por sua vez é translocada para o núcleo mediando a resposta de genes à Wnt (Chong & Maiese, 2004). Sendo assim, prevenindo a indução de apoptose, da liberação do citocromo c, mantendo a capacidade energética mitocondrial, aumentando a regulação de genes antioxidantes, mantendo a integridade do DNA e regulando diretamente a via NRSF/REST (Nishihara, Tsuda & Ogura, 2003; Lu et al., 2014; Chong & Maiese, 2004). Nossos resultados também demonstraram aumento da expressão de REST no hipocampo de camundongos velhos. Além disso, demonstramos que o exercício potencializou a expressão de REST no hipocampo dos animais velhos. Nossos resultados são pioneiros ao demonstrar esse efeito. O único trabalho semelhante, mas em

camundongos adultos, demonstrou que o exercício diminuiu a expressão de REST no hipocampo de camundongos (Mojtahedi et al., 2013). Entretanto, o desenho experimental utilizado nesta dissertação e no trabalho de Mojtahedi et al (2014) são diferentes.

Nós sugerimos que o aumento da expressão de REST no hipocampo dos animais velhos esteja associado aos benefícios neurológicos do exercício físico. Pois também demonstramos aumento na expressão de BDNF e diminuição da expressão de interleucinas associadas à neuroinflamação. Além disso, o exercício físico atenuou o comportamento doentio nos animais velhos. De modo geral, estes achados são relacionados a benefícios neurológicos em animais e seres humanos (Poo, 2001; Kwon et al., 2013; Aguiar et al., 2011; Erickson et al., 2011; Schmidt-Kastner, Wetmore & Olson, 1996).





## 6. CONCLUSÃO

Estes resultados demonstraram que o exercício físico reduziu a expressão de citocinas inflamatórias e aumentou a expressão de REST e BDNF no hipocampo dos animais velhos, acompanhado da redução do comportamento ansiogênico e tipo-depressivo, componentes do comportamento doentio. Assim, reforçamos o papel neuroplástico e anti-inflamatório do exercício também no hipocampo de animais velhos.

Ainda sugerimos que o fator REST seja relevante para manutenção da neuroplasticidade hipocampal de animais velhos, ou até mesmo neuroproteção, devidos aos recentes achados na literatura e deste trabalho. Finalmente, o fator REST parece ser crucial para os mecanismos neuroplásticos do exercício no hipocampo de animais velhos, mas não no de animais adultos.



## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Afilalo, J., Eisenberg, M.J., Morin, J.F., Bergman, H., Monette, J., Noiseux, N., Perrault, L.P., Alexander, K.P., Langlois, Y., Dendukuri, N., Chamoun, P., Kasparian, G., Robichaud, S., Gharacholou, S.M., Boivin, J.F., 2010. Gait speed as an incremental predictor of mortality and major morbidity in elderly patients undergoing cardiac surgery. *J. Am. Coll. Cardiol.* 56, 1668–1676.
- Aguiar AS Jr, Castro AA, Moreira EL, Glaser V, Santos AR, Tasca CI, Latini A, Prediger RD (2011). Short bouts of mild-intensity physical exercise improve spatial learning and memory in aging rats: involvement of hippocampal plasticity via AKT, CREB and BDNF signaling. *Mech Ageing Dev.* Nov-Dec;132(11-12):560-7.
- Aguiar AS Jr, Stragier E, da Luz Scheffer D, Remor AP, Oliveira PA, Prediger RD, Latini A, Raisman-Vozari R, Mongeau R, Lanfumey L (2014). Effects of exercise on mitochondrial function, neuroplasticity and anxiodepressive behavior of mice. *Neuroscience.* Jun 20;271:56-63.
- Aguiar AS Jr; Tristao FS; Amar M; Chevarin C; Glaser V; De Paula MR; Moreira EL; Mongeau R; Lanfumey L; Raisman-Vozari R; Latini A; Prediger RD. Six weeks of voluntary exercise don't protect C57BL/6 mice against neurotoxicity of MPTP and MPP(+). *Neurotox Res*, v. 25, n. 2, p. 147-152, 2014a.
- Akers KG, Martinez-Canabal A, Restivo L, Yiu AP, De Cristofaro A, Hsiang HL, Wheeler AL, Guskjolen A, Niibori Y, Shoji H, Ohira K, Richards BA, Miyakawa T, Josselyn SA, Frankland PW (2014). Hippocampal Neurogenesis Regulates Forgetting During Adulthood and Infancy. *Science.* May 9;344(6184):598-602.

- Alper G, Girgin FK, Ozgönül M, Menteş G, Ersöz B. MAO inhibitors and oxidant stress in aging brain tissue. *Eur Neuropsychopharmacol*. 1999 Mar;9(3):247-52.
- Antunes HKM, Santos RF, Boscolo RA, Bueno OFA, Mello MT. Análise da taxa metabólica basal de idosos do sexo masculino antes e seis meses após exercícios de resistência. *Rev Bras Med Esporte*. 2005;11(1):71-5.
- Archer T, Fredriksson A, Johansson B (2011). Exercise alleviates Parkinsonism: clinical and laboratory evidence. *Acta Neurol Scand*. 123:73–84.
- Archer T (2011). Physical exercise alleviates debilities of normal aging and Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand*. 123:221–238.
- Babcock GT, Wikstrom M (1992). Oxygen activation and the conservation of energy in cell respiration. *Nature* 356:301-309.
- Bake S, Selvamani A, Cherry J, Sohrabji F. Blood brain barrier and neuroinflammation are critical targets of IGF-1-mediated neuroprotection in stroke for middle-aged female rats. *PLoS One*. 2014 Mar 11;9(3):e91427. doi: 10.1371/journal.pone.0091427. eCollection 2014.
- Baker LD, Frank LL, Foster-Schubert K, Green PS, Wilkinson CW, McTiernan A, Plymate SR, Fishel MA, Watson GS, Cholerton BA, Duncan GE, Mehta PD, Craft S (2010). Effects of aerobic exercise on mild cognitive impairment: a controlled trial. *Arch Neurol*. Jan;67(1):71-9.
- Ballas N, Mandel G (2005). The many faces of REST oversee epigenetic programming of neuronal genes. *Curr Opin Neurobiol*. Oct;15(5):500-6. Review.
- Baltes PB, Staudinger UM, Maercker A, Smith J (1995). People nominated as wise: a comparative study of wisdom-

- related knowledge. *Psychol Aging*. Jun;10(2):155-66. Bao TH, Miao W, Han JH, Yin M, Yan Y, Wang WW, Zhu YH (2014). Spontaneous Running Wheel Improves Cognitive Functions of Mouse Associated with miRNA Expressional Alteration in Hippocampus Following Traumatic Brain Injury. *J Mol Neurosci*. Jun 12.
- Banks WA, Farr SA, Morley JE. Entry of blood-borne cytokines into the central nervous system: effects on cognitive processes. *Neuroimmunomodulation*. 2002-2003;10(6):319-27.
- Bao TH, Miao W, Han JH, Yin M, Yan Y, Wang WW, Zhu YH. Spontaneous Running Wheel Improves Cognitive Functions of Mouse Associated with miRNA Expressional Alteration in Hippocampus Following Traumatic Brain Injury. *J Mol Neurosci*. 2014 Jun 12
- Barnes DE, Yaffe K, Satariano WA, Tager IB. A longitudinal study of cardiorespiratory fitness and cognitive function in healthy older adults. *JAMA*. 2003;51(4):459–65.
- Barrientos RM, Higgins EA, Biedenkapp JC, Sprunger DB, Wright-Hardesty KJ, Watkins LR, Rudy JW, Maier SF (2006). Peripheral infection and aging interact to impair hippocampal memory consolidation. *Neurobiol Aging* 27:723–32.
- Barrientos RM, Frank MG, Crysdale NY, Chapman TR, Ahrendsen JT, Day HE, Campeau S, Watkins LR, Patterson SL, Maier SF (2011). Little exercise, big effects: reversing aging and infection-induced memory deficits, and underlying processes. *J Neurosci*. 31:11578–11586.
- Baumgartner RN, Wayne SJ, Waters DL, Janssen I, Gallagher D, Morley JE. Sarcopenic obesity predicts instrumental activities of daily living disability in the elderly. *Obes Res*. 2004; 12:1995– 2004. [PubMed: 15687401]

- Batista, RLA; Souza FO; Dias LAR; Silva ACJSR; Freitas MMS; Sá MFS; Ferreira CHJ. Revisão sistemática das influências do hipoestrogenismo e do treinamento sobre a incontinência urinária / Systematic review of hypoestrogenism influences? and training on urinary incontinence *Femina*;38(3), mar. 2010. tab.
- Bayod S, Del Valle J, Lalanza JF, Sanchez-Roige S, de Luxán-Delgado B, Coto-Montes A, Canudas AM, Camins A, Escorihuela RM, Pallàs M. Long-term physical exercise induces changes in sirtuin 1 pathway and oxidative parameters in adult rat tissues. *Exp Gerontol*. 2012 Dec;47(12):925-35. doi: 10.1016/j.exger.2012.08.004. Epub 2012 Aug 23.
- Beekman AT, Geerlings SW, Deeg DJ, Smit JH, Schoevers RS, de Beurs E, Braam AW, Penninx BW, van Tilburg W (2002). The natural history of late-life depression: a 6-year prospective study in the community. *Archives of general psychiatry*., 59:605–611.
- Ben Abdallah NM, Slomianka L, Vyssotski AL, Lipp HP (2010). Early age-related changes in adult hippocampal neurogenesis in C57mice. *Neurobiol. Aging* 31, 151–161. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2008.03.002. Epub 2008 May 1
- Ben-Porath I, Weinberg RA (2005) The signals and pathways activating cellular senescence. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 37, 961–976.
- Benedetti, T.B (2004). Atividade física: uma perspectiva de promoção de saúde do idoso no município de Florianópolis. Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciência de Saúde, Doutorado em Enfermagem (Tese de Doutorado)

- Benedetti TRB, Borges LJ, Petroski ELP, Gonçalves LHT. Physical activity and mental health status among elderly people. *Rev Saúde Pública* 2008;42(2):302-7
- Berman RM, Cappiello A, Anand A, Oren DA, Heninger GR, Charney DS, Krystal JH (2000). Antidepressant effects of ketamine in depressed patients. *Biol Psychiatry*. Feb 15;47(4):351-4.
- Biesmans S, Meert TF, Bouwknecht JA, Acton PD, Davoodi N, De Haes P, Kuijlaars J, Langlois X, Matthews LJ, Ver Donck L, Hellings N, Nuydens R (2013). Systemic immune activation leads to neuroinflammation and sickness behavior in mice. *Mediators Inflamm.*, 2013:271359. doi: 10.1155/2013/271359. Epub 2013 Jul 10.
- Blaylock RL (2013). Immunology primer for neurosurgeons and neurologists part 2: Innate brain immunity. *Surgical Neurology International* 4:118.
- Block ML, Zecca L, Hong JS (2007). Microglia-mediated neurotoxicity: uncovering the molecular mechanisms. *Nat Rev Neurosci* 8:57-69.
- Blumenthal JA, Babyak MA, Moore KA, Craighead WE, Herman S, Khatri P, Waugh R, Napolitano MA, Forman LM, Appelbaum M, Doraiswamy PM, Krishnan KR. Effects of exercise training on older patients with major depression. *Arch Intern Med*. 1999 Oct 25;159(19):2349-56.
- Bluthé RM, Walter V, Parnet P, Layé S, Lestage J, Verrier D, Poole S, Stenning BE, Kelley KW, Dantzer R (1994). Lipopolysaccharide induces sickness behaviour in rats by a vagal mediated mechanism. *C R Acad Sci III*. Jun;317(6):499-503.
- Boehme M, Guenther M, Stahr A, Liebmann M, Jaenisch N, Witte OW and Frahm C (2014). Impact of indomethacin on

neuroinflammation and hippocampal neurogenesis in aged mice. *Neurosci Lett* 572: 7-12.

Bondy C, Werner H, Roberts CT Jr, LeRoith D. Cellular pattern of type-I insulin-like growth factor receptor gene expression during maturation of the rat brain: comparison with insulin-like growth factors I and II. *Neuroscience*. 1992;46(4):909-23.

Bootsma-van der Wiel, A., Gussekloo, J., De Craen, A.J., Van Exel, E., Bloem, B.R., Westendorp, R.G., 2002. Common chronic diseases and general impairments as determinants of walking disability in the oldest-old population. *J. Am. Geriatr. Soc.* 50, 1405–1410

Brandauer J, Andersen MA, Kellezi H, Risis S, Frøsig C, Vienberg SG, Treebak JT. AMP-activated protein kinase controls exercise training- and AICAR-induced increases in SIRT3 and MnSOD. *Front Physiol.* 2015 Mar 24;6:85. doi: 10.3389/fphys.2015.00085. eCollection 2015.

Brasil. Ministério da Saúde. Diretrizes e recomendações cuidado integral de doenças crônicas não-transmissíveis. Promoção da saúde, vigilância, prevenção e assistência. Brasília: Ministério da Saúde; 2008

BRASIL, Secretaria de Vigilância em Saúde. Secretaria de Gestão Estratégica e Participativa. *Vigitel Brasil 2008: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico*, 2009.

Bratic A and Larsson N-G. The role of mitochondria in aging. *Clin Invest.* 2013;123(3):951–957. doi:10.1172/JCI64125

Briones TL, Suh E, Hattar H, Wadowska M (2005) Dentate gyrus neurogenesis after cerebral ischemia and behavioral training. *Biol Res Nurs* 6: 167–79.



- Brooks SV, Faulkner JA. Skeletal muscle weakness in old age: underlying mechanisms. *Med Sci Sports Exerc.* 1994; 26:432–439. [PubMed: 8201898].
- Broskey NT, Greggio C, Boss A, Boutant M, Dwyer A, Schlueter L, Hans D, Gremion G, Kreis R, Boesch C, Canto C, Amati F (2014). Skeletal muscle mitochondria in the elderly: effects of physical fitness and exercise training. *J Clin Endocrinol Metab.* May;99(5):1852-61.
- Bruce AW, Donaldson IJ, Wood IC, Yerbury SA, Sadowski MI, Chapman M, Gottgens B, Buckley NJ. Genome-wide analysis of repressor element 1 silencing transcription factor/neuron-restrictive silencing factor (REST/NRSF) target genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 10458–63
- Buckley NJ, Johnson R, Sun YM, Stanton LW (2009). Is REST a regulator of pluripotency? *Nature.* Feb 26;457(7233):E5-6; discussion E7. doi: 10.1038/nature07784.
- Buford TW, Anton SD, Clark DJ, Higgins TJ, Cooke MB (2014). Optimizing the benefits of exercise on physical function in older adults. *PM R.* Jun;6(6):528-43.
- Buford, T.W., Anton, S.D., Judge, A.R., Marzetti, E., Wohlgemuth, S.E., Carter, C.S., Leeuwenburgh, C., Pahor, M., Manini, T.M., 2010. Models of accelerated sarcopenia: critical pieces for solving the puzzle of age-related muscle atrophy. *Ageing Res. Rev.* 9, 369–383.
- Calderone A, Jover T, Noh KM, Tanaka H, Yokota H, Lin Y, Grooms SY, Regis R, Bennett MV, Zukin RS (2003). Ischemic insults derepress the gene silencer REST in neurons destined to die. *J Neurosci.* Mar 15;23(6):2112-21.

- Cao L, Jiao X, Zuzga DS, Liu Y, Fong DW, Yong D, During MJ . 2004. VEGF links hippocampal activity with neurogenesis, learning and memory. *Nat Genet* 36: 827–35.
- Carvalho VFC, Fernandez, MED. Depressão no idoso. In: Papaléo Netto M. *Gerontologia*. São Paulo: Atheneu; 1996. p.160-73.
- Cassilhas RC, Viana VA, Grassmann V, Santos RT, Santos RF, Tufik S, Mello MT. The impact of resistance exercise on the cognitive function of the elderly. *Med Sci Sports Exerc*. 2007 Aug;39(8):1401-7.
- Castle SC (2000). Clinical relevance of age-related immune dysfunction. *Clin Infect Dis*, 31:578-585.
- Centers For Disease Control And Prevention (United States). CDC growth charts. Atlanta, 2000. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/growthcharts>>.
- Centers for Disease Control and Prevention, Cost of falls among older adults. 2015. Centers for Disease Control and Prevention., 2008. Self-reported falls and fall-related injuries among persons aged > or = 65 years—United States, 2006. *MMWR Morb.Mortal.Wkly.Rep*. 57, 225–229.
- Chapman, I.M.; MacIntosh, C.G.; Morley, J.E.; Horowitz, M. The anorexia of ageing. *Biogerontology* 2002, 3, 67–71
- Charchat-Fichman, Helenice et al. Declínio da capacidade cognitiva durante o envelhecimento. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, São Paulo, v. 27, n. 12, p. 79-82, mar. 2005.
- Chen GH, Tong JJ, Wang F, Hu XQ, Li XW, Tao F, Wei ZJ. Chronic adjunction of 1-deoxynojirimycin protects from age-related behavioral and biochemical changes in the SAMP8 mice. *Age (Dordr)*. 2015 Oct;37(5):102. doi: 10.1007/s11357-015-9839-0. Epub 2015 Sep 23.

- Chen J, Buchanan JB, Sparkman NL, Godbout JP, Freund GG, Johnson RW (2008). Neuroinflammation and disruption in working memory in aged mice after acute stimulation of the peripheral innate immune system. *Brain Behav Immun* 22:301–11.
- Chen MJ, Russo-Neustadt AA (2009). Running exercise-induced up-regulation of hippocampal brain-derived neurotrophic factor is CREB-dependent. *Hippocampus*. Oct;19(10):962-72.
- Chen ZF, Paquette AJ, Anderson DJ (1998): NRSF/REST is required in vivo for repression of multiple neuronal target genes during embryogenesis. *Nat Genet*, 20:136-142.
- Chen W, Chang J, Pollock M, Graves JE, Probart CK, Splitter D. Effect of aerobic exercise training on anxiety reduction and health behaviors of healthy men and women 60 to 79 years of age. *Res Q Exerc Sport* 1992; 63(Suppl 1):33-8.
- Chilton WL, Marques FZ, West J, Kannourakis G, Berzins SP, O'Brien BJ, Charchar FJ. Acute exercise leads to regulation of telomere-associated genes and microRNA expression in immune cells. *PLoS One*. 2014 Apr 21;9(4):e92088. doi: 10.1371/journal.pone.0092088. eCollection 2014.
- Cho BP, Song DY, Sugama S, Shin DH, Shimizu Y, Kim SS, Kim YS, Joh TH (2006). Pathological dynamics of activated microglia following medial forebrain bundle transection. *Glia* 53:92-102.
- Chong ZZ, Maiese K. Targeting WNT, protein kinase B, and mitochondrial membrane integrity to foster cellular survival in the nervous system. *Histol Histopathol*. 2004 Apr;19(2):495-504.
- Chong JA, Tapia-Ramírez J, Kim S, Toledo-Aral JJ, Zheng Y, Boutros MC, Altshuler YM, Frohman MA, Kraner SD,

- Mandel G (1995). REST: a mammalian silencer protein that restricts sodium channel gene expression to neurons. *Cell*. Mar 24;80(6):949-57.
- Chou CH, Hwang CL, Wu YT (2012). Effect of exercise on physical function, daily living activities, and quality of life in the frail older adults: a meta-analysis. *Arch Phys Med Rehabil*. Feb;93(2):237-44.
- Cicirelli, V. G. (1990). Family support in relation to health problems of the elderly. Em: Brubaker, T. H. (ed.), *Family relationships in later life*. 2nd ed.. Newbury Park, CA: Sage.
- Clark PJ, Kohman RA, Miller DS, Bhattacharya TK, Haferkamp EH, Rhodes JS. Adult hippocampal neurogenesis and c-Fos induction during escalation of voluntary wheel running in C57BL/6J mice. *Behav Brain Sci*. 2010;213:246–252.
- Cobley JN, Bartlett JD, Kayani A, Murray SW, Louhelainen J, Donovan T, Waldron S, Gregson W, Burniston JG, Morton JP, Close GL (2012). PGC-1 $\alpha$  transcriptional response and mitochondrial adaptation to acute exercise is maintained in skeletal muscle of sedentary elderly males. *Biogerontology*. Dec;13(6):621-31.
- Coelho FG, Gobbi S, Andreatto CA, Corazza DI, Pedroso RV, Santos-Galduróz RF (2013). Physical exercise modulates peripheral levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF): a systematic review of experimental studies in the elderly. *Arch Gerontol Geriatr*. Jan-Feb;56(1):10-5. doi: 10.1016/j.archger.2012.06.003. Epub 2012 Jun 29.
- Colcombe SJ, Kramer AF (2003). Fitness effects on the cognitive function of older adults: a meta-analytic study. *Psychol Sci*. 14:125–30.

- Colton CA, Gilbert DL (1987). Production of superoxide anions by a CNS macrophage, the microglia. *FEBS Lett* 223:284-288.
- Conte, E.M.T. (2004). Indicadores de qualidade de vida em mulheres idosas. Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Desportos (Dissertação de Mestrado).
- Cooke, D. J. (1986). Psychosocial variables and the life event/anxiety-depression link. *Acta. Psychiatr. Scand.*74, 281-291.
- Cotman CW, Berchtold NC (2002). Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neurosci.* 25, 295–301.
- Cotman CW, Berchtold NC, Christie LA (2007). Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation. *Trends Neurosci.*, 30:464–472. doi: 10.1016/j.tins.2007.06.011.
- Csikász-Nagy A (2009). Computational systems biology of the cell cycle. *Brief Bioinform.* Jul;10(4):424-34. doi: 10.1093/bib/bbp005. Epub 2009 Mar 6. Review.
- Cunha MP, Oliveiram A, Pazini FL, Machado DG, Betio LEB, Budni J, Aguiar Jr AS, Martins DF, Santos ARS, Rodrigues ALS (2013). The antidepressant-like effect of physical activity on a voluntary running wheel. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 851- 859.
- Dantzer R (2001). Cytokine-induced sickness behavior: where do we stand? *Brain Behav Immun*, 15:7–24.
- Dantzer R, O'Connor JC, Freund GG, Johnson RW, Kelley KW (2008). From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci.* Jan;9(1):46-56. Review.

- Dantzer R, Walker AK (2014). Is there a role for glutamate-mediated excitotoxicity in inflammation-induced depression? *J Neural Transm.* 121:925–932 DOI 10.1007/s00702-014-1187-1.
- Debert, G. G. (1996). As representações (esteriótipos) do papel do idoso na sociedade atual. Em: Anais do I Seminário Internacional Envelhecimento Populacional. Uma agenda para o final do século. Brasília: MPAS, SAS.
- DeWald LE, Rodriguez JP, Levine JM (2011). The RE1 binding protein REST regulates oligodendrocyte differentiation. *J Neurosci.* Mar 2;31(9):3470-83. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2768-10.2011.
- Di Francesco, V.; Zamboni, M.; Zoico, E.; Mazzali, G.; Dioli, A.; Omizzolo, F.; Bissoli, L.; Fantin, F.; Rizzotti, P.; Solerte, S.B.; et al. Unbalanced serum leptin and ghrelin dynamics prolong postprandial satiety and inhibit hunger in healthy elderly: Another reason for the “anorexia of aging”. *Am. J. Clin. Nutr.* 2006, 83, 1149–1152
- Di Francesco, V.; Fantin, F.; Omizzolo, F.; Residori, L.; Bissoli, L.; Bosello, O.; Zamboni, M. The anorexia of aging. *Dig. Dis.* 2007, 25, 129–137.
- Di Loreto S, Falone S, D'Alessandro A, Santini S Jr, Sebastiani P, Cacchio M, Amicarelli F (2014). Regular and moderate exercise initiated in middle age prevents age-related amyloidogenesis and preserves synaptic and neuroprotective signaling in mouse brain cortex. *Exp Gerontol.* Sep;57:57-65.
- Di Loreto S, Falone S, D'Alessandro A, Santini S Jr, Sebastiani P, Cacchio M, Amicarelli F. Regular and moderate exercise initiated in middle age prevents age-related amyloidogenesis and preserves synaptic and neuroprotective signaling in mouse brain cortex. *Exp Gerontol.* 2014 Sep;57:57-65. doi: 10.1016/j.exger.2014.05.006. Epub 2014 May 14.

- Dimeo F, Bauer M, Varahram I, Proest G, Halter U. Benefits from aerobic exercise in patients with major depression: a pilot study. *Br J Sports Med* 2001;35:114–117.
- Dong W, Cheng S, Huang F, Fan W, Chen Y, Shi H, He H (2011) Mitochondrial dysfunction in long-term neuronal cultures mimics changes with aging. *Med Sci Monit* 17:91–96.
- Duman RS, Monteggia LM. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol Psychiatry*. 2006 Jun 15;59(12):1116-27. Epub 2006 Apr 21.
- Dumurgier, J., Elbaz, A., Ducimetiere, P., Tavernier, B., Alperovitch, A., Tzourio, C., 2009. Slow walking speed and cardiovascular death in well functioning older adults: prospective cohort study. *BMJ* 339, b4460.
- Dumurgier, J., Elbaz, A., Dufouil, C., Tavernier, B., Tzourio, C., 2010. Hypertension and lower walking speed in the elderly: the three-city study. *J. Hypertens.* 28, 1506–1514.
- Duron, E., Hanon, O., 2008. Hypertension, cognitive decline and dementia. *Arch. Cardiovasc. Dis.* 101, 181–189.
- Dzau VJ, Antman EM, Black HR, Hayes DL, Manson JE, Plutzky J, Popma JJ, Stevenson W. The cardiovascular disease continuum validated: clinical evidence of improved patient outcomes: part II: Clinical trial evidence (acute coronary syndromes through renal disease) and future directions. *Circulation*. 2006 Dec 19;114(25):2871-91. Review.
- Dzau VJ, Antman EM, Black HR, Hayes DL, Manson JE, Plutzky J, Popma JJ, Stevenson W. The cardiovascular disease continuum validated: clinical evidence of improved patient outcomes: part I: Pathophysiology and clinical trial evidence (risk factors through stable coronary artery disease). *Circulation*. 2006 Dec 19;114(25):2850-70. Review.

- E L, Burns JM, Swerdlow RH. Effect of high-intensity exercise on aged mouse brain mitochondria, neurogenesis, and inflammation. *Neurobiol Aging*. 2014 Nov;35(11):2574-83. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2014.05.033. Epub 2014 Jun 10.
- Engel SR; Creson T K; Hao Y; Shen Y; Maeng S; Nekrasova T; Landreth GE; Manji HK; Chen G (2009). The extracellular signal-regulated kinase pathway contributes to the control of behavioral excitement. *Mol Psychiatry*, v. 14, n. 4, p. 448-461.
- Erickson KI, Kramer AF. Aerobic exercise effects on cognitive and neural plasticity in older adults. *Br J Sports Med*. 2009;43:22–24.
- Erickson KI, Prakash RS, Voss MW, Chaddock L, Heo S, McLaren M, Pence BD, Martin SA, Vieira VJ, Woods JA, McAuley E, Kramer AF. (2010). Brain-derived neurotrophic factor is associated with age-related decline in hippocampal volume. *J. Neurosci*. 30, 5368–5375.
- Erickson, K.I., Voss, M.W., Prakash, R.S., Basak, C., Szabo, A., Chaddock, L., Kim, J.S., Heo, S., Alves, H., White, S.M., Wojcicki, T.R., Mailey, E., Vieira, V.J. Martin, S.A., Pence, B.D., Woods, J.A., McAuley, E., Kramer, A.F. 2011. Exercise training increases size of hippocampus and improves memory. *Pro Natl Acad Sci U S A*. doi: 10.1073/pnas.1015950108.
- Evans WJ, Campbell WW. Sarcopenia and age-related changes in body composition and functional capacity. *J Nutr*. 1993 Feb;123(2 Suppl):465-8.
- Evans WJ, Cyr-Campbell D. Nutrition, exercise, and healthy aging. *J Am Diet Assoc*. 1997 Jun;97(6):632-8. Review.
- Faria Junior, J. C.; Mendes, J. K. F.; Barbosa, D. B. M. Associação entre comportamentos de risco à saúde em



- adolescentes. *Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano*. 9(3):250-256; 2007.
- Ferreira, C.P. Modelagem lógica de senescência celular humana. Dissertação de mestrado. Pós Graduação em Física, Centro de Ciências Naturais e Exatas, UFSM – RS, 2012.
- Ferreira ICFR, Abreu RMV (2007). Stress Oxidativo, Antioxidantes e Fitoquímicos. *Bioanálise*. Ano IV, n. 2, Jul/Dez.
- Figueiredo CP, Pamplona FA, Mazzuco TL, Aguiar AS Jr, Walz R, Prediger RD. Role of the glucose-dependent insulinotropic polypeptide and its receptor in the central nervous system: therapeutic potential in neurological diseases. *Behav Pharmacol*. 2010 Sep;21(5-6):394-408. doi: 10.1097/FBP.0b013e32833c8544.
- Fiocco, A.J., Shatenstein, B., Ferland, G., Payette, H., Belleville, S., Kergoat, M.J., Morais, J.A., Greenwood, C.E., 2012. Sodium intake and physical activity impact cognitive maintenance in older adults: the NuAge Study. *Neurobiol. Aging* 33 (829), e21–e28.
- Ford E, Voit R, Liszt G, Magin C, Grummt I, Guarente L. Mammalian Sir2 homolog SIRT7 is an activator of RNA polymerase I transcription. *Genes Dev*. 2006 May 1; 20(9): 1075–1080. doi: 10.1101/gad.1399706.
- Fraga CG, Shigenaga MK, Park JW, Degan P, Ames BN (1990). Oxidative damage to DNA during aging: 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in rat organ DNA and urine. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 87(12):4533–4537.
- Frank P, Andersson E, Pontén M, Ekblom B, Ekblom M, Sahlin K (2015). Strength training improves muscle aerobic capacity and glucose tolerance in elderly. *Scand J Med Sci Sports*. Aug 14.

- Frank-Cannon TC1, Alto LT, McAlpine FE, Tansey MG (2009). Does neuroinflammation fan the flame in neurodegenerative diseases? *Mol Neurodegener.* Nov 16;4:47. doi: 10.1186/1750-1326-4-47.
- Freeman, L.R., Haley-Zitlin, V., Rosenberger, D.S., Granholm, A.C., 2014. Damaging effects of a high-fat diet to the brain and cognition: a review of proposed mechanisms. *Nutr. Neurosci.* 17, 241–251.
- Frontera WR, Meredith CN, O'Reilly KP, Knuttgen HG, Evans WJ (1988) Strength conditioning in older men: skeletal muscle hypertrophy and improved function. *J Appl Physiol* 64:1038–1044.
- Gal DL, Santos AC, Barros H. Leisure-time versus full-day energy expenditure: a cross-sectional study of sedentarism in a Portuguese urban population. *BMC Public Health.* 2005 Feb 15;5:16.
- Ge S, Yang CH, Hsu KS, Ming GL, Song H (2007). A critical period for enhanced synaptic plasticity in newly generated neurons of the adult brain. *Neuron.*;54(4):559–66. doi:10.1016/j.neuron.2007.05.002.
- Gibbons TE, Pence BD, Petr G, Ossyra JM, Mach HC, Bhattacharya TK, Perez S, Martin SA, McCusker RH, Kelley KW, Rhodes JS, Johnson RW, Woods JA (2014). Voluntary wheel running, but not a diet containing (-)-epigallocatechin-3-gallate and  $\beta$ -alanine, improves learning, memory and hippocampal neurogenesis in aged mice. *Behav Brain Res.* Oct 1;272:131-40
- Ginaldi L, De Martinis M, D'Ostilio A, Marini L, Loreto MF, Quagliano D (1999). Immunological changes in the elderly. *Aging (Milano)*, 11:281-286.
- Giordano S, Darley-Usmar V, Zhang J. Autophagy as an essential cellular antioxidant pathway in

neurodegenerative disease. *Redox Biol.* 2013 Dec 25;2:82-90.

Godbout JP, Chen J, Abraham J, Richwine AF, Berg BM, Kelley KW, Johnson RW (2005). Exaggerated neuroinflammation and sickness behavior in aged mice following activation of the peripheral innate immune system. *FASEB J.* Aug;19(10):1329-31. Epub 2005 May 26.

Goes AT; Souza LC; Filho CB; Del Fabbro L; De Gomes MG; Boeira SP; Jesse CR. Neuroprotective effects of swimming training in a mouse model of Parkinson's disease induced by 6-hydroxydopamine. *Neuroscience*, v. 256, n., p. 61-71, 2014.

Goodpaster BH, Chomentowski P, Ward BK, Rossi A, Glynn NW, Delmonico MJ, Kritchevsky SB, Pahor M, Newman AB. Effects of physical activity on strength and skeletal muscle fat infiltration in older adults: a randomized controlled trial. *J Appl Physiol.* 2008; 105:1498–1503. [PubMed: 18818386].

Goodpaster BH, Carlson CL, Visser M, Kelley DE, Scherzinger A, Harris TB, Stamm E, Newman AB. Attenuation of skeletal muscle and strength in the elderly: The Health ABC Study. *J Appl Physiol.* 2001; 90:2157–2165. [PubMed: 11356778].

Gomes, V. B.; Siqueira, K. S.; Sichieri, R. Atividade física em uma amostra probabilística da população do Município do Rio de Janeiro. *Caderno Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 17(4):969-976, jul - ago, 2001.

Gostner JM, Becker K, Fuchs D, Sucher R (2013) Redox regulation of the immune response. *Redox Rep* 18(3):88-94.

- Griffin ÉW, Mullally S, Foley C, Warmington SA, O'Mara SM, Kelly AM. Aerobic exercise improves hippocampal function and increases BDNF in the serum of young adult males. *Physiol Behav.* 2011 Oct 24;104(5):934-41. doi: 10.1016/j.physbeh.2011.06.005. Epub 2011 Jun 23.
- Grivicich, I et al. Programmed cell death. *Rev. Bras. de Cancerologia.* V 53(3) p 335-343.2007.
- Grosse L, Carvalho LA, Wijkhuijs AJ, Bellingrath S, Ruland T, Ambrée O, Alferink J, Ehring T, Drexhage HA, Arolt V (2014) Clinical characteristics of inflammation-associated depression: Monocyte gene expression is age-related in major depressive disorder. *Brain Behav Immun.* 1591(14)00421-8.
- Groves-Chapman JL, Murray PS, Stevens KL, Monroe DC, Koch LG, Britton SL, Holmes PV, Dishman RK. Changes in mRNA levels for brain-derived neurotrophic factor after wheel running in rats selectively bred for high- and low-aerobic capacity. *Brain Res.* 2011 Nov 24;1425:90-7. doi: 10.1016/j.brainres.2011.09.059. Epub 2011 Oct 6.
- Guarente L. Calorie restriction and sirtuins revisited. *Genes & development.* 2013;27(19):2072-85.
- Haider S, Saleem S, Perveen T, Tabassum S, Batool Z, Sadir S, Liaquat L, Madiha S. Age-related learning and memory deficits in rats: role of altered brain neurotransmitters, acetylcholinesterase activity and changes in antioxidant defense system. *Age (Dordr)* 2014 June; 36(3): 9653. Published online 2014 April 27. doi: 10.1007/s11357-014-9653-0
- Hajjar, I., Wharton, W., Mack, W.J., Levey, A.I., Goldstein, F.C., 2015. Racial disparity in cognitive and functional disability in hypertension and all-cause mortality. *Am. J. Hypertens.* 29 (2), 185–193.

- Hallal, P.C.; Victora, C.G.; Wells, J.C.K.; Lima, R.C. (2003). Physical inactivity: prevalence and associated variables in Brazilian adults. *Med.Sci.Sports Exerc.* 35 (11)1894-1900.
- Halliwell B (2007). Biochemistry of oxidative stress. *Biochem Soc Trans.* Nov;35(Pt 5):1147-50.
- Harman D (1956) Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol.* 11, 298–300.
- Harridge SDR, Young A (1998) Skeletal muscle. In: Pathy MJS (ed) *Principles and practice of geriatric medicine*. Wiley, London, pp 898–905.
- Hatalski, C. G., Brunson, K. L., Tantayanubutr, B., Chen Y. e Baram T. Z. (2000). Neuronal activity and stress differentially regulate hippocampal and hypothalamic corticotropin-releasing hormone expression in the immature rat. *Neuroscience*, 101, 571-580.
- Hein AM, O'Banion MK (2009). Neuroinflammation and memory: the role of prostaglandins. *Mol Neurobiol.* Aug;40(1):15-32. doi: 10.1007/s12035-009-8066-z. Epub 2009 Apr 14.
- Henry CJ, Huang Y, Wynne A, Hanke M, Himler J, Bailey MT, Sheridan JF, Godbout JP (2008a). Minocycline attenuates lipopolysaccharide (LPS)-induced neuroinflammation, sickness behavior, and anhedonia. *J Neuroinflamm* 5:15.
- Herbener G (1976). A morphometric study of age-dependent changes in mitochondrial populations of mouse liver and heart. *J Gerontol.*, 31(1):8–12.
- Herman, J. P. e Cullinan, W. E. (1997). Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Trends Neurosci.*, 20, 78-84
- Hickey MA; Kosmalka A; Enayati J; Cohen R; Zeitlin S; Levine MS; Chesselet MF (2008). Extensive early motor and

non-motor behavioral deficits are followed by striatal neuronal loss in knock-in Huntington's disease mice. *Neuroscience*, v. 157, n. 1, p. 280-295.

Hill RD, Storandt M, Malley M (1993). The impact of long-term exercise training on psychological function in older adults. *J Gerontol.*, 48:P12–P17.

Hirsch EC, Vyas S, Hunot S (2012). Neuroinflammation in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* Jan;18 Suppl 1:S210-2. doi: 10.1016/S1353-8020(11)70065-7.

Hori YS, Kuno A, Hosoda R, Horio Y (2013). Regulation of FOXOs and p53 by SIRT1 modulators under oxidative stress. *PLoS One.* Sep 11;8(9):e73875.

Houston DK, Nicklas BJ, Ding J, Harris TB, Tylavsky FA, Newman AB, Lee JS, Sahyoun NR, Visser M, Kritchevsky SB. Health ABC Study. Dietary protein intake is associated with lean mass change in older, community-dwelling adults: the Health, Aging, and Body Composition (Health ABC) Study. *Am J Clin Nutr.* 2008; 87:150–155. [PubMed: 18175749]

Houtkooper RH, Pirinen E, Auwerx J. Sirtuins as regulators of metabolism and healthspan. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2012 Mar 7;13(4):225-38. doi: 10.1038/nrm3293.

Huang AM, Jen CJ, Chen HF, Yu L, Kuo YM, Chen HI (2006) Compulsive exercise acutely upregulates rat hippocampal brain-derived neurotrophic factor. *J Neural Transm* 113: 803–11.

Huang Y, Myers SJ, Dingledine R (1999) Transcriptional repression by REST: recruitment of Sin3A and histone deacetylase to neuronal genes. *Nat Neurosci* 2: 867–872.

IBGE – Instituto brasileiro de geografia e estatística. 2008. Projeção da população Disponível em <

[http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/projecao\\_da\\_populacao/2008/](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/projecao_da_populacao/2008/) > Acesso dezembro 2015.

Imtiaz B, Tolppanen AM, Kivipelto M, Soininen H (2014) Future directions in Alzheimer's disease from risk factors to prevention. *Biochemical pharmacology* 88:661-670.

Janssen I. Influence of sarcopenia on the development of physical disability: the Cardiovascular Health Study. *J Am Geriatr Soc* 2006; 54: 56–62; Janssen I, Heymsfield SB, Ross R. Low relative skeletal muscle mass (sarcopenia) in older persons is associated with functional impairment and physical disability. *J Am Geriatr Soc* 2002; 50: 889–896.;

Janssen I, Heymsfield SB, Ross R. Low relative skeletal muscle mass (sarcopenia) in older persons is associated with functional impairment and physical disability. *J Am Geriatr Soc* 2002; 50: 889–896.

Jendrach M, Pohl S, Vöth M, Kowald A, Hammerstein P, Bereiter-Hahn J (2005) Morpho-dynamic changes of mitochondria during ageing of human endothelial cells. *Mech. Ageing Dev.* 126, 813–821.

Jiang H, Khan S, Wang Y, Charron G, He B, Sebastian C, et al. SIRT6 regulates TNF $\alpha$  secretion through hydrolysis of long-chain fatty acyl lysine. *Nature*. 2013;496(7443):110-+.

Jorgensen HF, Chen ZF, Merckenschlager M, Fisher AG (2009). Is REST required for ESC pluripotency? *Nature*. Feb 26;457(7233):E4-5; discussion E7. doi: 10.1038/nature07783.

Jun, Z., Fengzhen, Y., Li, Z., Jiang-gang, W., Puyuan, W., Hao, L., Wenwen, L., Zhi, S., Sharman, E.H., Bondy, S.C (2014). Dietary melatonin attenuates age-related changes

in morphology and in levels of key proteins in globus pallidus of mouse brain. *Brain Research* 1546:1-8

Jurk D, Wang C, Miwa S, Maddick M, Korolchuk V, Tsolou A, Gonos ES, Thrasivoulou C, Saffrey MJ, Cameron K, von Zglinicki T (2012). Postmitotic neurons develop a p21-dependent senescence-like phenotype driven by a DNA damage response. *Aging Cell*. Dec;11(6):996-1004.

Kabir M, Catalano KJ, Ananthnarayan S, Kim SP, Van Citters GW, Dea Mk, et al. Molecular evidence supporting the portal theory: a causative link between visceral adiposity and hepatic insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2005;288(2):454-61.

Kaiser MJ, Bauer JM, R msch C et al. Frequency of malnutrition in older adults: a multinational perspective using the mini nutritional assessment. *J Am Geriatr Soc* 2010; 58: 1734–1738.).

Kanfi Y, Naiman S, Amir G, Peshti V, Zinman G, Nahum L, et al. The sirtuin SIRT6 regulates lifespan in male mice. *Nature*. 2012;483(7388):218-21.

Ke Z, Yip SP, Li L, Zheng XX, Tong KY (2011) The effects of voluntary, involuntary, and forced exercises on brain-derived neurotrophic factor and motor function recovery: a rat brain ischemia model. *PLoS ONE* 6: e16643.

Kelley, K. W., J. C. O'Connor, M. A. Lawson, R. Dantzer, S. L. Rodriguez-Zas and R. H. McCusker (2013). "Aging leads to prolonged duration of inflammation-induced depression-like behavior caused by *Bacillus Calmette-Guerin*." *Brain Behav Immun* 32: 63-69.

Kesner RP (2013). An analysis of the dentate gyrus function. *Behav Brain Res*. Oct 1;254:1-7. doi: 10.1016/j.bbr.2013.01.012. Epub 2013 Jan 21.



- Khabour OF, Alzoubi KH, Alomari MA, Alzubi MA (2009) Changes in spatial memory and BDNF expression to concurrent dietary restriction and voluntary exercise. *Hippocampus* 20: 637–45.
- Kim D, Nguyen MD, Dobbin MM, Fischer A, Sananbenesi F, Rodgers JT, et al. SIRT1 deacetylase protects against neurodegeneration in models for Alzheimer's disease and amyotrophic lateral sclerosis. *The EMBO journal*. 2007;26(13):3169-79.
- Kim HS, Patel K, Muldoon-Jacobs K, Bisht KS, Aykin-Burns N, Pennington JD, et al. SIRT3 Is a Mitochondria-Localized Tumor Suppressor Required for Maintenance of Mitochondrial Integrity and Metabolism during Stress. *Cancer Cell*. 2010;17(1):41-52.
- King AC, Rejeski WJ, Buchner DM. Physical activity interventions targeting older adults. A critical review and recommendations. *Am J Prev Med* 1998;15:316-33.
- Koh, M.T, Spiegel, A.M, Gallagher, M (2014). Age-Associated Changes in Hippocampal-Dependent Cognition in Diversity Outbred Mice. *Hippocampus* 00:1–8
- Kohman RA, Rodriguez-Zas SL, Southey BR, Kelley KW, Dantzer R, Rhodes J S (2011). Voluntary wheel running reverses age-induced changes in hippocampal gene expression. *Plos One* 6(8): e22654.
- Kohman, R. A., T. K. Bhattacharya, E. Wojcik and J. S. Rhodes (2013). Exercise reduces activation of microglia isolated from hippocampus and brain of aged mice. *J Neuroinflammation* 10: 114.
- Kohman, R. A., E. K. DeYoung, T. K. Bhattacharya, L. N. Peterson and J. S. Rhodes (2012). "Wheel running attenuates microglia proliferation and increases expression of a proneurogenic phenotype in the

hippocampus of aged mice." *Brain Behav Immun* 26(5): 803-810.

Kohman, R. A. and J. S. Rhodes (2013). "Neurogenesis, inflammation and behavior." *Brain Behav Immun* 27(1): 22-32.

Kohut ML, Boehm GW, Moynihan JA (2001). Moderate exercise is associated with enhanced antigen-specific cytokine, but not IgM antibody production in aged mice. *Mech Ageing Dev.* Aug;122(11):1135-50

Konopka AR, Sreekumaran Nair K (2013). Mitochondrial and skeletal muscle health with advancing age. *Mol Cell Endocrinol.* Oct 15;379(1-2):19-29

Konsman JP, Vignes S, Mackerlova L, Bristow A, Blomqvist A (2004). Rat brain vascular distribution of interleukin-1 type-1 receptor immunoreactivity: relationship to patterns of inducible cyclooxygenase expression by peripheral inflammatory stimuli. *J Comp Neurol.* Apr 19;472(1):113-29.

Kraemer AF, Hahn S, McAuley E. Influence of aerobic fitness on the neurocognitive function of older adults. *J Aging Phys Act* 2000;8:379- 85.

Kraemer WJ, Volek JS, Clark KL, Gordon SE, Puhl SM, Koziris LP, McBride JM, Triplett-McBride NT, Putukian M, Newton RU, Häkkinen K, Bush JA, Sebastianelli WJ. Influence of exercise training on physiological and performance changes with weight loss in men. *Med Sci Sports Exerc.* 1999 Sep;31(9):1320-9.

Kuhn HG, Dickinson-Anson H, Gage FH (1996). Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: age-related decrease of neuronal progenitor proliferation. *J Neurosci.* Mar 15;16(6):2027-33.

- Kwon DH, Kim BS, Chang H, Kim YI, Jo SA, Leem YH (2013). Exercise ameliorates cognition impairment due to restraint stress-induced oxidative insult and reduced BDNF level. *Biochem Biophys Res Commun*. May 3;434(2):245-51. doi: 10.1016/j.bbrc.2013.02.111. Epub 2013 Mar 25
- Larkin GL, Beautrais AL (2011). A preliminary naturalistic study of low-dose ketamine for depression and suicide ideation in the emergency department. *Int J Neuropsychopharmacol*. Sep;14(8):1127-31. doi: 10.1017/S1461145711000629. Epub 2011 May 5.
- Latini A, da Silva CG, Ferreira GC, Schuck PF, Scussiato K, Sarkis JJ, Dutra Filho CS, Wyse AT, Wannmacher CM, Wajner M (2005). Mitochondrial energy metabolism is markedly impaired by D-2-hydroxyglutaric acid in rat tissues. *Molecular genetics and metabolism* 86:188-199.
- Lawless C, Jurk D, Gillespie CS, Shanley D, Saretzki G, Von Zglinicki T, Passos JF (2012) A stochastic step model of replicative senescence explains ROS production rate in ageing cell populations. *PLoS ONE* 7, e32117.
- Leavitt VM, Cirnigliaro C, Cohen A, Farag A, Brooks M, Wecht JM, Wylie GR, Chiaravalloti ND, DeLuca J, Sumowski JF (2014). Aerobic exercise increases hippocampal volume and improves memory in multiple sclerosis: preliminary findings. *Neurocase*. 20(6):695-7. doi: 10.1080/13554794.2013.841951. Epub 2013 Oct 4
- Lee SC, Liu W, Dickson DW, Brosnan CF, Berman JW (1993). Cytokine production by human fetal microglia and astrocytes. Differential induction by lipopolysaccharide and IL-1 beta. *J Immunol* 150:2659-2667.
- Lee OH, Kim J, Kim JM, et al: Decreased expression of sirtuin 6 is associated with release of high mobility group box-1 after cerebral ischemia. *Biochem Biophys Res Commun* 438: 388-394, 2013.

- Lee Y. The predictive value of self assessed general, physical, and mental health on functional decline and mortality in older adults. *J Epidemiol Community Health* 2000;54:123-9.
- Leone, S, Shohreh, R, Manippa, F, Recinella, L, Ferrante, C, Orlando, G, Salvatori, R, Vacca, M, Brunetti, L (2014). Behavioural phenotyping of male growth hormone-releasing hormone (GHRH) knockout mice. *Growth hormone & IGF research*.
- Lezi E, Burns, J.M, Swerdlow, R.H (2014). Effect of high-intensity exercise on aged mouse brain mitochondria, neurogenesis, and inflammation. *Neurobiology of Aging*. 1-10.
- Lin CI, Huang WC, Chen WC, Kan NW, Wei L, Chiu YS, Huang CC (2015). Effect of whole-body vibration training on body composition, exercise performance and biochemical responses in middle-aged mice. *Metabolism*. Sep;64(9):1146-56.
- Lipsky, R.H., Marini, A.M., 2007. Brain-derived neurotrophic factor in neuronal survival 1116 and behavior-related plasticity. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1122, 130–143.
- Lipton SA, Gu Z, Nakamura T (2007) Inflammatory mediators leading to protein misfolding and uncompetitive/fast off-rate drug therapy for neurodegenerative disorders. *International review of neurobiology* 82:1-27.
- Littlefield AM, Setti SE, Priester C, Kohman RA (2015). Voluntary exercise attenuates LPS-induced reductions in neurogenesis and increases microglia expression of a proneurogenic phenotype in aged mice. *J Neuroinflammation*. Jul 30;12:138. doi: 10.1186/s12974-015-0362-0.

- Liu B, Gao HM, Wang JY, Jeohn GH, Cooper CL, Hong JS (2002). Role of nitric oxide in inflammation-mediated neurodegeneration. *Ann N Y Acad Sci* 962:318-331.
- Lopresti AL, Hoodb SD, Drummond PD (2013). A review of lifestyle factors that contribute to important pathways associated with major depression: Diet, sleep and exercise. *J Affect Disord*. May 15;148(1):12-27
- Lou SJ, Liu JY, Chang H, Chen PJ (2008). Hippocampal neurogenesis and gene expression depend on exercise intensity in juvenile rats. *Brain Res*. May 19;1210:48-55. doi: 10.1016/j.brainres.2008.02.080. Epub 2008 Mar 7.
- Louveau A, Smirnov I, Keyes TJ, Eccles JD, Rouhani SJ, Peske JD, Derecki NC, Castle D, Mandell JW, Kevin SL, Harris TH, Kipnis J. Structural and functional features of central nervous system lymphatics. *Nature*. 2015 July 16; 523(7560): 337–341. doi:10.1038/nature14432.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265–275.
- Lu T, Aron L, Zullo J, Pan Y, Kim H, Chen Y, Yang TH, Kim HM, Drake D, Liu XS, Bennett DA, Colaiácovo MP, Yankner BA (2014). REST and stress resistance in ageing and Alzheimer's disease. *Nature*. Mar 27;507(7493):448-54.
- Luheshi GN, Bluthé RM, Rushforth D, Mulcahy N, Konsman JP, Goldbach M, Dantzer R. Vagotomy attenuates the behavioural but not the pyrogenic effects of interleukin-1 in rats. *Auton Neurosci*. 2000 Dec 20;85(1-3):127-32.
- Lykissas MG, Batistatou AK, Charalabopoulos KA, Beris AE. The role of neurotrophins in axonal growth, guidance, and regeneration. *Curr Neurovasc Res*. 2007 May;4(2):143-51.

- Maass A, Düzel S, Goerke M, Becke A, Sobieray U, Neumann K, Lövdén M, Lindenberger U, Bäckman L, Braun-Dullaeus R, Ahrens D, Heinze HJ, Müller NG, Düzel E (2015). Vascular hippocampal plasticity after aerobic exercise in older adults. *Mol. Psychiatry* 20, 585–593.
- Maass A, Düzel S, Brigadski T, Goerke M, Becke A, Sobieray U, Neumann K, Lövdén M, Lindenberger U, Bäckman L, Braun-Dullaeus R, Ahrens D, Heinze HJ, Müller NG, Lessmann V, Sendtner M, Düzel E (2015). Relationships of peripheral IGF-1, VEGF and BDNF levels to exercise-related changes in memory, hippocampal perfusion and volumes in older adults. *Neuroimage*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2015.10.084>
- MacIntosh, C.; Morley, J.E.; Chapman, I.M. The anorexia of aging. *Nutrition* 2000, 16, 983–995
- Maeng S, Zarate CA Jr (2007). The role of glutamate in mood disorders: results from the ketamine in major depression study and the presumed cellular mechanism underlying its antidepressant effects. *Curr Psychiatry Rep.* Dec;9(6):467-74.
- Mai S, Klinkenberg M, Auburger G, Bereiter-Hahn J, Jendrach M (2010) Decreased expression of Drp1 and Fis1 mediates mitochondrial elongation in senescent cells and enhances resistance to oxidative stress through PINK1. *J Cell Sci* 123:917–926
- Maier SF, Watkins LR (1998). Cytokines for psychologists: implications of bidirectional immune-to-brain communication for understanding behavior, mood, and cognition. *Psychol Rev.* Jan;105(1):83-107.
- Mangge H, Becker K, Fuchs D, Gostner JM (2014) Antioxidants, inflammation and cardiovascular disease. *World J Cardiol* 26;6(6):462-77.

- Mao ZY, Tian X, Van Meter M, Ke ZH, Gorbunova V, Seluanov A. Sirtuin 6 (SIRT6) rescues the decline of homologous recombination repair during replicative senescence. *P Natl Acad Sci USA*. 2012;109(29):11800-5.
- Martin SA, Pence BD, Greene RM, Johnson SJ, Dantzer R, Kelley KW, Woods JA (2013). Effects of voluntary wheel running on LPS-induced sickness behavior in aged mice. *Brain Behav Immun*. Mar;29:113-23. doi: 10.1016/j.bbi.2012.12.014. Epub 2012 Dec 28.
- Martin SA, Dantzer R, Kelley KW, Woods JA (2014). Voluntary wheel running does not affect lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior in young adult and aged mice. *Neuroimmunomodulation* 21(1):52-63.
- Mattagajasingh I, Kim CS, Naqvi A, Yamamori T, Hoffman TA, Jung SB, et al. SIRT1 promotes endothelium-dependent vascular relaxation by activating endothelial nitric oxide synthase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(37):14855-60.
- McBride, H.M., Neuspiel, M., Wasiak, S., 2006. Mitochondria: more than just a powerhouse. *Current Biology* 6, R551–R560.
- McCarroll SA, Murphy CT, Zou S, Pletcher SD, Chin CS, Jan YN, Kenyon C, Bargmann CI, Li H (2004) Comparing genomic expression patterns across species identifies shared transcriptional profile in aging. *Nat. Genet.* 36, 197–204.
- Mendelsohn A.R, Larrick J.W (2013). Trade-offs between anti-aging dietary supplementation and exercise. *Rejuvenation Res.* Oct;16(5):419-26.
- Michan S, Sinclair D. Sirtuins in mammals: insights into their biological function. *Biochem J*. 2007 May 15;404(1):1-13.

- Michan S, Li Y, Chou MM, Parrella E, Ge H, Long JM, et al. SIRT1 is essential for normal cognitive function and synaptic plasticity. *J Neurosci*. 2010;30(29):9695-707.
- Mir, F.; Zafar, F.; Morley, J.E. Anorexia of aging: Can we decrease protein energy undernutrition in the nursing home? *J. Am. Med. Dir. Assoc*. 2013, 14, 77–79.
- Mitschelen M, Yan H, Farley JA, Warrington JP, Han S, Hereñú CB, Csiszar A, Ungvari Z, Bailey-Downs LC, Bass CE, Sonntag WE. Long-term deficiency of circulating and hippocampal insulin-like growth factor I induces depressive behavior in adult mice: a potential model of geriatric depression. *Neuroscience*. 2011 Jun 30;185:50-60. doi: 10.1016/j.neuroscience.2011.04.032. Epub 2011 Apr 20
- Moschen AR, Wieser V, Gerner RR, et al: Adipose tissue and liver expression of SIRT1, 3, and 6 increase after extensive weight loss in morbid obesity. *J Hepatol* 59: 1315-1322, 2013.
- Moehrer B, Hextall A, Jackson S. Oestrogens for urinary incontinence in women (Cochrane Review). *Cochrane Library Review*, Issue 3, 2007. Oxford: Update Software.
- Mojtahedi S, Kordi MR, Hosseini SE, Omran SF, Soleimani M (2013). Effect of treadmill running on the expression of genes that are involved in neuronal differentiation in the hippocampus of adult male rats. *Cell Biol Int*. Apr;37(4):276-83.
- Möller T (2010). Neuroinflammation in Huntington's disease. *J Neural Transm*. Aug;117(8):1001-8. doi: 10.1007/s00702-010-0430-7. Epub 2010 Jun 10.
- Monteiro CA, Conde WL, Matsudo SM, Matsudo VR, Bonseñor IM, Lotufo, PA. A descriptive epidemiology of leisure-time



- physical activity in Brazil, 1996-1997. *Pan Am J Public Health* 2003; 14: 246-54.
- Mostoslavsky R, Chua KF, Lombard DB, et al: Genomic instability and aging-like phenotype in the absence of mammalian SIRT6. *Cell* 124: 315-329, 2006.
- Mori N (1997). Molecular genetic approaches to the genes of longevity, aging and neurodegeneration in mammals. *Mech Ageing Dev.* Dec;98(3):223-30.
- Mori N, Mizuno T, Murai K, Nakano I, Yamashita H (2002). Effect of age on the gene expression of neural-restrictive silencing factor NRSF/REST. *Neurobiol Aging.* Mar-Apr;23(2):255-62.
- Moss DW, Bates TE (2001). Activation of murine microglial cell lines by lipopolysaccharide and interferon-gamma causes NO-mediated decreases in mitochondrial and cellular function. *Eur J Neurosci.* Feb;13(3):529-38.
- Mozaffarian, D., Benjamin, E.J., Go, A.S., Arnett, D.K., Blaha, M.J., Cushman, M., de Ferranti, S., Despres, J.P., Fullerton, H.J., Howard, V.J., Huffman, M.D., Judd, S.E., Kissela B.M., Lackland D.T., Lichtman J.H., Lisabeth L.D., Liu S., Mackey R.H., Matchar D.B., McGuire, D.K., Mohler, E.R., 3rd, Moy, C.S., Muntner, P., Mussolino, M.E., Nasir, K., Neumar, R.W., Nichol, G., Palaniappan, L., Pandey, D.K., Reeves, M.J., Rodriguez, C.J., Sorlie, P.D., Stein, J., Towfighi, A., Turan, T.N., Virani, S.S., Willey, J.Z., Woo, D., Yeh, R.W., Turner, M.B., American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee., 2015. Heart disease and stroke statistics—2015 update: a report from the American Heart Association. *Circulation.* 131, e29–322.
- Murray PS; Groves JL; Pettett BJ; Britton SL; Koch LG; Dishman RK; Holmes PV (2010). Locus coeruleus galanin expression is enhanced after exercise in rats selectively

bred for high capacity for aerobic activity. *Peptides*, v. 31, n. 12, p. 2264-2268.

Muscaritoli, M.; Anker, S.D.; Argilés, J.; Aversa, Z.; Bauer, J.M.; Biolo, G.; Boirie, Y.; Bosaeus, I.; Cederholm, T.; Costelli, P.; et al. Consensus definition of sarcopenia, cachexia and pre-cachexia: Joint document elaborated by Special Interest Groups (SIG) “cachexia-anorexia in chronic wasting diseases” and “nutrition in geriatrics”. *Clin. Nutr.* 2010, 29, 154–159

Nakajima K, Honda S, Tohyama Y, Imai Y, Kohsaka S, Kurihara T. Neurotrophin secretion from cultured microglia. *J Neurosci Res.* 2001 Aug 15;65(4):322-31.

Nalapareddy K, Jiang H, Guachalla Gutierrez LM, Rudolph KL. Determining the influence of telomere dysfunction and DNA damage on stem and progenitor cell aging: what markers can we use? *Exp Gerontol.* 2008 Nov;43(11):998-1004. doi: 10.1016/j.exger.2008.09.002. Epub 2008 Sep 11.

Narkar VA, Downes M, Yu RT, Embler E, Wang YX, Banayo E, Mihaylova MM, Nelson MC, Zou Y, Juguilon H, Kang H, Shaw RJ, Evans RM. AMPK and PPARdelta agonists are exercise mimetics. *Cell.* 2008 Aug 8;134(3):405-15. doi: 10.1016/j.cell.2008.06.051. Epub 2008 Jul 31. PMID: 18674809

Nelson KM, Weinsier RL, Long CL, Schutz Y. Prediction of resting energy expenditure from fat-free mass and fat mass. *Am J Clin Nutr.* 1992;56(5):848-56.

Neves G, Cooke SF, Bliss TV (2008). Synaptic plasticity, memory and the hippocampus: a neural network approach to causality. *Nat Rev Neurosci.* Jan;9(1):65-75. Review. Erratum in: *Nat Rev Neurosci.* Dec;13(12):878.

- Newman, A.B., Simonsick, E.M., Naydeck, B.L., Boudreau, R.M., Kritchevsky, S.B., Nevitt, M.C., Pahor, M., Satterfield, S., Brach, J.S., Studenski, S.A., Harris, T.B., 2006. Association of long-distance corridor walk performance with mortality, cardiovascular disease, mobility limitation, and disability. *JAMA* 295, 2018–2026
- Nieto-Estévez V, Defterali Ç, Vicario-Abejón C. IGF-I: A Key Growth Factor that Regulates Neurogenesis and Synaptogenesis from Embryonic to Adult Stages of the Brain. *Front Neurosci.* 2016 Feb 23;10:52. doi: 10.3389/fnins.2016.00052. eCollection 2016.
- Nishihara S, Tsuda L, Ogura T. The canonical Wnt pathway directly regulates NRSF/REST expression in chick spinal cord. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003 Nov 7;311(1):55-63.
- Nowotny, K, Jung, T, Grune, T, Hohn, A. Accumulation of modified proteins and aggregate formation in aging. *Exp Gerontol.* 2014 Sep;57:122-31
- O'Connor JC et al (2009a) Interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha mediate the upregulation of indoleamine 2,3-dioxygenase and the induction of depressive-like behavior in mice in response to bacillus Calmette–Guerin. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 29:4200–4209. doi:10.1523/JNEUROSCI.5032-08.2009
- O'Connor JC et al (2009b) Induction of IDO by bacille Calmette–Guerin is responsible for development of murine depressive-like behavior. *J Immunol* 182:3202–3212. doi:10.4049/jimmunol.0802722
- O'Connor JC et al (2009c) Lipopolysaccharide-induced depressive like behavior is mediated by indoleamine 2,3-dioxygenase activation in mice. *Mol Psychiatry* 14:511–522. doi:10.1038/sj.mp.4002148.

- O'Connor KG, Tobin JD, Harman SM, et al. Serum levels of insulin-like growth factor-I are related to age and not to body composition in healthy women and men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 1998;53:M176-M182.
- Oellerich MF, Potente M. FOXOs and Sirtuins in Vascular Growth, Maintenance, and Aging. *Circ Res*. 2012;110(9):1238-51.
- Oliff HS, Berchtold NC, Isackson P, Cotman CW (1998). Exercise-induced regulation of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) transcripts in the rat hippocampus. *Brain Res Mol Brain Res*. Oct 30;61(1-2):147-53.
- OMS - Organização Mundial de Saúde – Quantifying Selected Major Risks to Health. 2002. Disponível em: [http://www.who.int/whr/2002/en/whr02\\_ch4.pdf?ua=1](http://www.who.int/whr/2002/en/whr02_ch4.pdf?ua=1)> Acesso fevereiro de 2016.
- OMS - Organização Mundial de Saúde – Ageing and health. 2015. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs404/en/>> Acesso fevereiro 2016.
- OMS - Organização Mundial de Saúde - Preventing disease through healthy environments. 2015. Disponível em: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204585/1/9789241565196\\_eng.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204585/1/9789241565196_eng.pdf?ua=1)>
- O'Rourke MF, Safar ME, Dzau V. The Cardiovascular Continuum extended: aging effects on the aorta and microvasculature. *Vasc Med*. 2010 Dec;15(6):461-8. doi: 10.1177/1358863X10382946. Epub 2010 Nov 5. Review.
- Otsuka T, Nishii A, Amemiya S, Kubota N, Nishijima T, Kita I. Effects of acute treadmill running at different intensities on activities of serotonin and corticotropin-releasing factor neurons, and anxiety- and depressive-like behaviors in rats. *Behav Brain Res*. 2016 Feb 1;298(Pt B):44-51. doi: 10.1016/j.bbr.2015.10.055. Epub 2015 Nov 2.

- Ownby RL (2010). Neuroinflammation and cognitive aging. *Curr Psychiatry Rep.* Feb;12(1):39-45. doi: 10.1007/s11920-009-0082-1.
- Palace J (2007). Inflammation versus neurodegeneration: consequences for treatment. *J Neurol Sci.* Aug 15;259(1-2):46-9. Epub 2007 Apr 5.
- Palm K, Belluardo N, Metsis M, Timmusk T (1998). Neuronal expression of zinc finger transcription factor REST/NRSF/XBR gene. *J Neurosci.* Feb 15;18(4):1280-96.
- Palombo C, Kozakova M. Arterial stiffness, atherosclerosis and cardiovascular risk: Pathophysiologic mechanisms and emerging clinical indications. *Vascul Pharmacol.* 2016 Feb;77:1-7. doi: 10.1016/j.vph.2015.11.083. Epub 2015 Nov 28.
- Panossian L, Fenik P, Zhu Y, Zhan G, McBurney MW, Veasey S. 2011. SIRT1 regulation of wakefulness and senescence-like phenotype in wake neurons. *J Neurosci* 31:4025–4036.
- Parise G, Brose AN, Tarnopolsky MA (2005). Resistance exercise training decreases oxidative damage to DNA and increases cytochrome oxidase activity in older adults. *Exp Gerontol.* Mar;40(3):173-80.
- Park S, Mori R, Shimokawa I. Do sirtuins promote mammalian longevity? A critical review on its relevance to the longevity effect induced by calorie restriction. *Mol Cells.* 2013 Jun;35(6):474-80. doi: 10.1007/s10059-013-0130-x. Epub 2013 May 8.
- Pasini E, Le Douairon Lahaye S, Flati V, Assanelli D, Corsetti G, Specia S, Bernabei R, Calvani R, Marzetti E (2012). Effects of treadmill exercise and training frequency on

anabolic signaling pathways in the skeletal muscle of aged rats. *Exp Gerontol.* Jan;47(1):23-8.

Peiris H, Dubach D, Jessup CF, Unterweger P, Raghupathi R, Muyderman H, Zanin MP, Mackenzie K, Pritchard MA, Keating DJ. 2014. RCAN1 regulates mitochondrial function and increases susceptibility to oxidative stress in mammalian cells. *Oxid Med Cell Longev* 2014:520316

Perry VH, Matyszak MK, Fearn S. 1993. Altered antigen expression of microglia in the aged rodent CNS. *Glia* 7:60–67.

Perry VH, Cunningham C, Holmes C. Systemic infections and inflammation affect chronic neurodegeneration. *Nat Rev Immunol.* 2007; 7:161-167.

Pham TM, Brene S, Baumans V (2005). Behavioral assessment of intermittent wheel running and individual housing in mice in the laboratory. *J Appl Anim Welf Sci*, v. 8, n. 3, p. 157-173.

Phillips C, Baktir MA, Srivatsan M, Salehi A. Neuroprotective effects of physical activity on the brain: a closer look at trophic factor signaling. *Front Cell Neurosci.* 2014 Jun 20;8:170.

Pimplikar SW (2014). Neuroinflammation in Alzheimer's disease: from pathogenesis to a therapeutic target. *J Clin Immunol.* Jul;34 Suppl 1:S64-9. doi: 10.1007/s10875-014-0032-5. Epub 2014 Apr 8.

Pons S, Torres-Aleman I. Insulin-like growth factor-I stimulates dephosphorylation of ikappa B through the serine phosphatase calcineurin (protein phosphatase 2B). *J Biol Chem.* 2000 Dec 8;275(49):38620-5.

Poo MM. Neurotrophins as synaptic modulators. *Nat Rev Neurosci* 2001;2:24–32.

- Quan N, Whiteside M, Herkenham M (1998). Time course and localization patterns of interleukin-1beta messenger RNA expression in brain and pituitary after peripheral administration of lipopolysaccharide. *Neuroscience*. Mar;83(1):281-93.
- Quintanilla, R. A., J. A. Orellana and R. von Bernhardt (2012). "Understanding risk factors for Alzheimer's disease: interplay of neuroinflammation, connexin-based communication and oxidative stress." *Arch Med Res* 43(8): 632-644.
- Radák Z, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Pucsek J, Sasvári M, Nyakas C, Goto S (2001). Regular exercise improves cognitive function and decreases oxidative damage in rat brain. *Neurochem Int*. Jan;38(1):17-23
- Radak Z, Toldy A, Szabo Z, Siamilis S, Nyakas C, Silye G, Jakus J, Goto S (2006). The effects of training and detraining on memory, neurotrophins and oxidative stress markers in rat brain. *Neurochem Int*. Sep;49(4):387-92.
- Reichenberg A, Yirmiya R, Schuld A, Kraus T, Haack M, Morag A, Pollmächer T (2001). Cytokine-associated emotional and cognitive disturbances in humans. *Arch Gen Psychiatry*, 58:445-452.
- Ribeiro SMR, de Queiroz JH, Peluzio MCG, Costa NMB, da Matta SLP, de Queiroz MELR (2005). A Formacao E Os Efeitos Das Esppecies Reativas De Oxigenio No Meio Biologico. *Bioscience Journal*. Vol 21, No 3.
- Richter EA, Kiens B, Wojtaszewski JF. Can exercise mimetics substitute for exercise? *Cell Metab*. 2008 Aug;8(2):96-8. doi: 10.1016/j.cmet.2008.07.004. PMID: 18680710.
- Richwine AF, Parkin AO, Buchanan JB, Chen J, Markham JA, Juraska JM, Johnson RW (2008). Architectural changes to CA1 pyramidal neurons in adult and aged mice after

peripheral immune stimulation. *Psychoneuroendocrinology* 33:1369–77.

Rogers MA, Evans WJ (1993). Changes in skeletal muscle with aging: effects of exercise training. *Exerc. Sport Sci. Rev.* 21, 65–102

Romano AD, Greco E, Vendemiale G, Serviddio G (2014). Bioenergetics and mitochondrial dysfunction in aging: recent insights for a therapeutical approach. *Curr Pharm Des.* 20(18):2978-92.

Rotwein, P., Burgess, S. K., Milbrandt, J. D., and Krause, J. E. (1988). Differential expression of insulin-like growth factor genes in rat central nervous system. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85, 265–269. doi: 10.1073/pnas.85.1.265

Rowe, WJ, Kahn, RL (1998). Successful aging. *Aging (Milano)*. Apr;10(2):142-4.

Rustin P; Chretien D; Bourgeron T; Gérard B; Rötig A; Saudubray Jm; Munnich A (1994). Biochemical and molecular investigations in respiratory chain deficiencies. *Clinica Chimica Acta* 228: 35-51.

Sallaberry C, Nunes F, Costa MS, Fioreze GT, Ardais AP, Botton PH, Klaudat B, Forte T, Souza DO, Elisabetsky E, Porciúncula LO (2013). Chronic caffeine prevents changes in inhibitory avoidance memory and hippocampal BDNF immunocontent in middle-aged rats. *Neuropharmacology*. Jan;64:153-9. doi: 10.1016/j.neuropharm.2012.07.010. Epub 2012 Jul 27.

Sama DM, Norris CM (2013) Calcium dysregulation and neuroinflammation: discrete and integrated mechanisms for age-related synaptic dysfunction. *Ageing Res Rev.* 12(4):982-95.



- Sampedro-Piquero P, Zancada-Menendez C, Begega A, Mendez M, Arias JL (2013). Effects of forced exercise on spatial memory and cytochrome c oxidase activity in aged rats. *Brain Res.* Mar 28;1502:20-9.
- Santos, SSC (2003). Gerontology and the Edgar Morin presuppositions. *Textos Sobre Envelhecimento*, Rio de Janeiro, v. 6, n. 2. Disponível em <[http://revista.unati.uerj.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1517-59282003000200006&lng=pt&nrm=iso](http://revista.unati.uerj.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-59282003000200006&lng=pt&nrm=iso)>. acessos em 21 out. 2014.
- Sarga L, Hart N, Koch LG, Britton SL, Hajas G, Boldogh I, Ba X, Radak Z. Aerobic endurance capacity affects spatial memory and SIRT1 is a potent modulator of 8-oxoguanine repair. *Neuroscience*. 2013 Nov 12;252:326-36. doi: 10.1016/j.neuroscience.2013.08.020. Epub 2013 Aug 22.
- Sato D, Seko C, Hashitomi T, Sengoku Y, Nomura T (2014). Differential effects of water-based exercise on the cognitive function in independent elderly adults. *Aging Clin Exp Res*. Jun 26.
- Schiffer D, Caldera V, Mellai M, Conforti P, Cattaneo E, Zuccato C. Repressor element-1 silencing transcription factor (REST) is present in human control and Huntington's disease neurones. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2014 Dec;40(7):899-910. doi: 10.1111/nan.12137.
- Schmidt-Kastner R, Wetmore C, Olson L (1996). Comparative study of brain-derived neurotrophic factor messenger RNA and protein at the cellular level suggests multiple roles in hippocampus, striatum and cortex. *Neuroscience* Vol.74, No. 1, pp. 161-183.
- Schmolesky MT, Webb DL, Hansen RA (2013). The effects of aerobic exercise intensity and duration on levels of brain-derived neurotrophic factor in healthy men. *J Sports Sci Med*. Sep 1;12(3):502-11.

- Schoenherr CJ, Paquette AJ, Anderson DJ. Identification of potential target genes for the neuron-restrictive silencer factor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996 Sep 3;93(18):9881-6.
- Setiawan E, Wilson AA, Mizrahi R, Rusjan PM, Miler L, Rajkowska G, Suridjan I, Kennedy JL, Rekkas PV, Houle S, Meyer JH (2015). Role of translocator protein density, a marker of neuroinflammation, in the brain during major depressive episodes. *JAMA Psychiatry*. Mar;72(3):268-75. doi: 10.1001/jamapsychiatry.2014.2427.
- Sheffield LG, Berman NE (1998). Microglial expression of MHC class II increases in normal aging of nonhuman primates. *Neurobiol Aging*. Jan-Feb;19(1):47-55.
- Shelton, R. C., J. Claiborne, M. Sidoryk-Wegrzynowicz, R. Reddy, M. Aschner, D. A. Lewis and K. Mirnics (2011). "Altered expression of genes involved in inflammation and apoptosis in frontal cortex in major depression." *Mol Psychiatry* 16(7): 751-762.
- Shibata A, Oka K, Nakamura Y, Muraoka I Prevalence and demographic correlates of meeting the physical activity recommendation among Japanese adults. *Journal of physical activity & health* 2009; 6(1): 24-32
- Shoji H, Takao K, Hattori S, Miyakawa T. Age-related changes in behavior in C57BL/6J mice from young adulthood to middle age. *Mol Brain*. 2016 Jan 28;9(1):11. doi: 10.1186/s13041-016-0191-9.
- Simonsick EM, Kasper JD, Phillips CL (1998). Physical disability and social interaction: factors associated with low social contact and home confinement in disabled older women (The Women's Health and Aging Study). *J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci*. Jul; 53(4):S209-17.

- Singh P. Andropause: Current concepts. *Indian J Endocrinol Metab.* 2013 Dec;17(Suppl 3):S621-9. doi: 10.4103/2230-8210.123552. Review. PMID: 24910824
- Singh SK, Kagalwala MN, Parker-Thornburg J, Adams H, Majumder S (2008). REST maintains self-renewal and pluripotency of embryonic stem cells. *Nature.* May 8;453(7192):223-7. doi: 10.1038/nature06863. Epub 2008 Mar 23.
- Siqueira, FV, Facchini, LA, Piccini, RX, Tomasi, E, Thume, E, Silveira, DS et al. Atividade física em adultos e idosos residentes em áreas de abrangência de unidade básicas de saúde de municípios das regiões Sul e Nordeste do Brasil. *Cad Saúde Pública* 2008 (24): 39-54.
- Small SA, Schobel SA, Buxton RB, Witter MP, Barnes CA. A pathophysiological framework of hippocampal dysfunction in ageing and disease. *Nat Rev Neurosci.* 2011 Sep 7;12(10):585-601. doi: 10.1038/nrn3085.
- Smith MA (1996). Hippocampal vulnerability to stress and aging;possible role of neurotrophic factors. *Behav. Brain Res.* 78,25–36.
- Snyder PJ, Peachey H, Hannoush P, Berlin JA, Loh L, Lenrow DA, et al. Effect of testosterone treatment on body composition and muscle strength in men over 65 years of age. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:2647-53.
- Soldati C, Bithell A, Johnston C, Wong KY, Teng SW, Beglopoulos V, Stanton LW, Buckley NJ. Repressor element 1 silencing transcription factor couples loss of pluripotency with neuronal induction and neuronal differentiation. *Stem Cells* 2012; 30:425-434.
- Spalding KL, Bergmann O, Alkass K, Bernard S, Salehpour M, Huttner HB, Boström E, Westerlund I, Vial C, Buchholz BA, Possnert G, Mash DC, Druid H, Frisén J. (2013).

Dynamics of hippocampal neurogenesis in adult humans. *Cell* 153, 1219–1227. doi: 10.1016/j.cell.2013.05.002.

Sparkman NL and Johnson RW (2008). Neuroinflammation associated with aging sensitizes the brain to the effects of infection or stress. *Neuroimmunomodulation* 15(4-6): 323-330.

Squire LR (1992). Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. Psychol Rev.* Apr;99(2):195-231.

Steru L, Chermat R, Thierry B, Simon P (1985). The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology (Berl)*. 85(3): 170 – 367.

Streit WJ (2002). Microglia as neuroprotective, immunocompetent cells of the CNS. *Glia* 40:133-139.

Streit WJ, Sparks DL (1997). Activation of microglia in the brains of humans with heart disease and hypercholesterolemic rabbits. *J Mol Med (Berl)*. Feb;75(2):130-8.

Sun YM, Greenway DJ, Johnson R, Street M, Belyaev ND, Deuchars J, Bee T, Wilde S, Buckley NJ. Distinct profiles of REST interactions with its target genes at different stages of neuronal development. *Mol Biol Cell*. 2005 Dec;16(12):5630-8. Epub 2005 Sep 29.

Suckling J, Lethaby A, Kennedy R. Local oestrogen for vaginal atrophy in postmenopausal women. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006;(4): CD001500.

Sugiura H, Nishida H, Inaba R, Mirbod SM, Iwata H (2000). Immunomodulation by 8-week voluntary exercise in mice. *Acta Physiol Scand*. Mar;168(3):413-20.

- Sumiyoshi A, Taki Y, Nonaka H, Takeuchi H, Kawashima R (2014). Regional gray matter volume increases following 7days of voluntary wheel running exercise: a longitudinal VBM study in rats. *Neuroimage*. Sep;98:82-90.
- Sun YM, Greenway DJ, Johnson R, Street M, Belyaev ND, Deuchars J, Bee T, Wilde S, Buckley NJ. Distinct profiles of REST interactions with its target genes at different stages of neuronal development. *Mol Biol Cell*. 2005 Dec;16(12):5630-8. Epub 2005 Sep 29. Erratum in: *Mol Biol Cell*. 2006 Mar;17(3):1494.
- Tachibana M, Shinohara M, Yamazaki Y, Liu CC, Rogers J, Bu G, Kanekiyo T. Rescuing effects of RXR agonist bexarotene on aging-related synapse loss depend on neuronal LRP1. *Exp Neurol*. 2015 Dec 11;277:1-9. doi: 10.1016/j.expneurol.2015.12.003.
- Tan FC, Hutchison ER, Eitan E, Mattson MP (2014). Are there roles for brain cell senescence in aging and neurodegenerative disorders? *Biogerontology*. Dec;15(6):643-60. doi: 10.1007/s10522-014-9532-1. Epub 2014 Oct 11.
- Tapia-Arancibia L, Aliaga E, Silhol M, Arancibia S (2008). New insights into brain BDNF function in normal aging and Alzheimer disease. *Brain Res Rev*. Nov;59(1):201-20. doi: 10.1016/j.brainresrev.2008.07.007. Epub 2008 Aug 3.
- Tauchi H, Sato T (1968). Age changes in size and number of mitochondria of human hepatic cells. *J Gerontol*, 23(4):454–461.
- Telenius EW, Engedal K, Bergland A (2015). Effect of a high-intensity exercise program on physical function and mental health in nursing home residents with dementia: an assessor blinded randomized controlled trial. *PLoS One*. May 14;10(5):e0126102.

- Tennen RI, Berber E and Chua KF: Functional dissection of SIRT6: identification of domains that regulate histone deacetylase activity and chromatin localization. *Mech Ageing Dev* 131: 185-192, 2010.
- Tivesten, A., Vandenput, L., Labrie, F., Karlsson, M. K., Ljunggren, O., Mellstrom, " D., & Ohlsson, C. (2009). Low serum testosterone and estradiol predict mortality in elderly men. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 94(7), 2482–2488. doi: jc.2008–2650 [pii]10.1210/jc.2008–2650.
- Travison TG, Araujo AB, Kupelian V, O'Donnell AB, McKinlay JB. Relative contribution of aging, health, and life-style factors to serum testosterone decline in men. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92: 549-55.
- Trejo JL, Carro E, Torres-Aleman I (2001). Circulating insulin-like growth factor I mediates exercise-induced increases in the number of new neurons in the adult hippocampus. *J Neurosci*. Mar 1;21(5):1628-34.
- Trejo JL, Piriz J, Llorens-Martin MV, Fernandez AM, Bolós M, LeRoith D, Nuñez A, Torres-Aleman I (2007). Central actions of liver-derived insulin-like growth factor I underlying its pro-cognitive effects. *Mol. Psychiatry* 12, 1118–1128.
- Vakhrusheva O, Smolka C, Gajawada P, Kostin S, Boettger T, Kubin T, et al. Sirt7 increases stress resistance of cardiomyocytes and prevents apoptosis and inflammatory cardiomyopathy in mice. *Circ Res*. 2008;102(6):703-10.
- van Deursen JM. The role of senescent cells in ageing. *Nature*. 2014 May 22;509(7501):439-46.
- van Kan A, G., Rolland, Y., Andrieu, S., Bauer, J., Beauchet, O., Bonnefoy, M., Cesari, M., Donini, L.M., Gillette Guyonnet, S., Inzitari, M., Nourhashemi, F., Onder, G., Ritz, P.,

- Salva, A., Visser, M., Vellas, B., 2009. Gait speed at usual pace as a predictor of adverse outcomes in community-dwelling older people na International Academy on Nutrition and Aging (IANA) Task Force. *J. Nutr. Health Aging* 13, 881–889.
- van Praag H, Kempermann G, Gage FH (1999). Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nat Neurosci.* Mar;2(3):266-70.
- van Praag H, Christie BR, Sejnowski TJ, Gage FH (1999). Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Nov 9;96(23):13427-31.
- van Praag H, Shubert T, Zhao C, Gage FH (2005). Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice. *J Neurosci.* Sep 21;25(38):8680-5.
- Varma VR, Chuang YF, Harris GC, Tan EJ, Carlson M (2015). Low-Intensity Daily Walking Activity is Associated With Hippocampal Volume in Older Adults. *HIPPOCAMPUS* 25:605–615
- Vaynman S, Ying Z, Yin D, Gomez-Pinilla F (2006) Exercise differentially regulates synaptic proteins associated to the function of BDNF. *Brain Res* 1070: 124–30.
- Vaynman S, Ying Z, Gomez-Pinilla F (2004). Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition. *Eur. J. Neurosci.* 20, 2580–2590.
- Vestergaard PFL, Hansen M, Frystyk J, et al. Serum levels of bioactive IGF1 and physiological markers of ageing in healthy adults. *Eur J Endocrinol* 2014;170:229-236
- VIGITEL. Vigitel Brasil 2008 - Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. Brasília: Ministério da Saúde; 2009.

- Vitkovic L, Konsman JP, Bockaert J, Dantzer R, Homburger V, Jacque C (2001). Cytokine signals propagate through the brain. *Mol Psychiatry*. 2000 Nov;5(6):604-15. Review. Erratum in: *Mol Psychiatry* Mar;6(2):249.
- Voet D, Voet JG (1995) *Biochemistry*. New York: John Wiley & sons, Inc.
- von Bernhardt, R. and J. Eugenin (2012). Alzheimer's disease: redox dysregulation as a common denominator for diverse pathogenic mechanisms. *Antioxid Redox Signal* 16(9): 974-1031.
- Voss MW, Vivar C, Kramer AF, van Praag H, (2013a). Bridging animal and human models of exercise-induced brain plasticity. *Trends Cogn. Sci.* 17, 525–544.
- Voss MW, Erickson KI, Prakash RS, Chaddock L, Kim JS, Alves H, Szabo A, Phillips SM, Wójcicki TR, Mailey EL, Olson EA, Gothe N, Vieira-Potter VJ, Martin SA, Pence BD, Cook MD, Woods JA, McAuley E, Kramer AF. (2013b). Neurobiological markers of exercise-related brain plasticity in older adults. *Brain Behav. Immun.* 28, 90–99.
- WADA – World anti-doping agency. 2016. Disponível em < <http://list.wada-ama.org/>> acesso fevereiro de 2016
- Walker DG, Whetzel AM, Lue LF (2015). Expression of suppressor of cytokine signaling genes in human elderly and Alzheimer's disease brains and human microglia. *Neuroscience*. Aug 27;302:121-37. doi: 10.1016/j.neuroscience.2014.09.052. Epub 2014 Oct 5.
- Wang X, Ren J, Wang Z, Yao J, Fei J (2012). NRSF/REST is required for gastrulation and neurogenesis during zebrafish development. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. May;44(5):385-93. doi: 10.1093/abbs/gms016. Epub 2012 Mar 16.



- Weinberg, R. S.; Gould, D. Fundamentos da psicologia do esporte e do exercício físico. Porto Alegre, Artmed, 2ª edição, 2001.
- Werner AA. The male climacteric. J Am Med Assoc. 1946 Sep 28;132:188-94
- Wilms H, Zecca L, Rosenstiel P, Sievers J, Deuschl G, Lucius R (2007). Inflammation in Parkinson's diseases and other neurodegenerative diseases: cause and therapeutic implications. Curr Pharm Des., 13(18):1925-8. Review.
- WHO - World Health Organization. Ageing and health 2015. Disponível em <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs404/en/>> acesso em fevereiro de 2016
- WHO - World Health Organization. World report on ageing and health. WHO; 2015. Disponível em <<http://www.who.int/ageing/publications/world-report-2015/en/>> acesso em fevereiro de 2016
- WHO - World Health Organization. Indoor air pollution. Disponível em <<http://www.who.int/features/qa/indoor-air-pollution/en/>> acesso em fevereiro de 2016
- Yang T-T, Lo C-P, Tsai P-S, Wu S-Y, Wang T-F, Chen Y-W, Jiang-Shieh Y-F, Kuo Y-M (2015): Aging and Exercise Affect Hippocampal Neurogenesis via Different Mechanisms. PLoS ONE 10(7).
- Yoon YS, Byun HO, Cho H, Kim B-K, Yoon G (2003) Complex II defect via down-regulation of iron-sulfur subunit induces mitochondrial dysfunction and cell cycle delay in iron chelation-induced senescence-associated growth arrest. J. Biol. Chem. 278, 51577–51586.
- Yu M, Suo H, Liu M, Cai L, Liu J, Huang Y, Xu J, Wang Y, Zhu C, Fei J, Huang F (2013). NRSF/REST neuronal deficient

mice are more vulnerable to the neurotoxin MPTP. *Neurobiol Aging*. Mar;34(3):916-27. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2012.06.002. Epub 2012 Jul 4.

Zhao, Y., Zhu, M., Yu, Y., Qiu, L., Zhang, Y., He, L., Zhang, J. 2016. Brain REST/NRSF Is Not Only a Silent Repressor but Also an Active Protector. *Mol Neurobiol*. doi:10.1007/s12035-015-9658-4.

Ziegler DV, Wiley CD, Velarde MC (2015). Mitochondrial effectors of cellular senescence: beyond the free radical theory of aging. *Aging Cell*. Feb;14(1):1-7. doi: 10.1111/accel.12287. Epub 2014 Nov 14.

Zoladz JA, Majerczak J, Zeligowska E, Mencil J, Jaskolski A, Jaskolska A, Marusiak J (2014). Moderate-intensity interval training increases serum brain-derived neurotrophic factor level and decreases inflammation in Parkinson's disease patients. *J Physiol Pharmacol*. Jun;65(3):441-8.

Zuccato C, Tartari M, Crotti A, Goffredo D, Valenza M, Conti L, Cataudella T, Leavitt BR, Hayden MR, Timmusk T, Rigamonti D, Cattaneo E (2003) Huntingtin interacts with REST/NRSF to modulate the transcription of NRSE-controlled neuronal genes. *Nat Genet* 35:76-83.